ESCULAP

SUB REDACȚIA
Conf.dr. GEORGE POPA

actualități în HEMATOLOGIE

27

Junimea · 1980

actualități în HEMATOLOGIE

sub redacția
Conf. dr. GEORGE POPA

ESCULAP —27

EDITURA JUNIMEA

IAȘI • 1980

Scanned with OKEN Scanner

CUVÎNT ÎNAINTE

Pe o anumită treaptă a cunoașterii, adevărul uman este adeseori consensul nostru asupra unor aproximații.

Acest fapt se verifică în mod particular în hematologie, unul din cele mai frămîntate domenii ale medicinii teoretice și practice, unde actualitatea are nu rareori durată de efemeridă, noutățile succedîndu-se cu accelerație crescîndă.

Volumul de față își propune să fie, pe de o parte un ghid printre unele incertitudini, cum sînt: celula tulpină, — veritabilă fata morgana a hematologiei moderne; clasificarea limfoamelor maligne, care, — odată cu alungarea de pe tron a venerabilei „celule reticulare" — amenință să devină un turn al lui Babel, diverșii autori exersîndu-și aici preferințele lor semantice; tratamentul leucemiilor acute, vast domeniu al speranței și mîhnirii noastre.

Pe de altă parte, cartea se referă la unele certitudini: problema hemoglobinelor anormale, în general și pe teritoriul țării noastre; pericolul major al abuzului în utilizarea unor medicamente cu înalt risc hematologic; răspunderea gravă ce revine practicianului de a nu avea curajul terapeutic într-o mare urgență: coagularea intravasculară diseminată.

Sîngele nu dă numai culoare vieții și chipului uman, dar el este și cel care asigură personalitatea noastră biologică. El este locul unde se dă lupta între noi și rest, între proteina proprie și proteina străină. Limfocitului îi revine această sarcină „cosmică". Lucrarea prezintă și unele aspecte teoretice, dar și practice, ale imunologiei sistemului limfoid. Aici revine noțiunea răspunderii noastre în prescrierea unor droguri cu efecte potențial negative asupra țesutului care dispune de cele mai fine și complexe, și de aceea, cele mai fragile mecanisme biologice: sîngele.

Astfel, cartea de față își îngăduie să fie o invitație la faptă, precum și la meditație.

Conf. dr. G. POPA

Scanned with OKEN Scanner

ABREVIERI

ADM = Adriamicină
ARA-C = Cytosar
ASP = L-asparaginază
BL = Bleomicină
CAR, CYT = Cytosar
CCF = celule centrofoliculare
CFC = celule formatoare de colonii
CFU = unităţi formatoare de colonii
CIVD = coagulare intravasculară diseminată
CSF = factor stimulator de colonii
DNR, DRB = Daunorubicină
EPE = VP 16.213
ERC = celule răspunzînd la eritropoietină
FP = fibrinoliză primară
GVH = (reacţie de) grefă-contra-gazdă
HUR = Hidroxiuree
IS = imunoblastosarcom
LA = leucemie acută
LAI = limfadenopatia angioimunoblastică
LAL = leucemia acută limfoblastică
LAM = leucemia acută mieloblastică
LAP = leucemia acută promielocitară
LAPl = leucemia acută plasmocitară
LAMMo = leucemia acută mielo-monocitară
LAMo = leucemia acută monocitară
LGC = leucemia granulocitară cronică
LLC = leucemia limfatică cronică
LM = limfom malign
MM = mielom multiplu
MGGH = Metil-glioxal
MLR = reacţie limfocitară mixtă (*mixed lymphocyte reaction*)
6-MP = 6-Mercapto-purină
PDF = produşi de degradare ai fibrinei
PDN = prednison
RS = reticulosarcom
S-R = (celule) Sternberg-Reed
TSF = factorul stimulator al trombocitopoiezei
VBL = Vinblastină
VCR = Vincristină

CONCEPȚII ACTUALE ÎN HEMATOPOIEZA

de G. Popa, Mărioara Niculescu, Mioara Popa

Una din problemele cele mai controversate ale hematologiei a fost aceea a hematopoiezei, și anume : originea, potențialitățile și interrelațiile celulelor primitive hematopoietice. Părerile opuse s-au centrat pe caracterizarea morfologică și funcțională a așa-numitelor *celule tulpină libere*, în acest sens dezvoltîndu-se teoria monofiletică (34) și diferitele forme ale teoriei polifiletice.

Ceea ce a fost în general acceptat de toți hematologii clasici este concepția că celulele tulpină libere se dezvoltă *local* în fiecare organ hematopoietic dintr-o populație de *celule stromale fixe*. Varietatea celulară acceptată de majoritatea hematologilor era *celula mezenchimală nediferențiată*, aparținînd sincițiului reticular celular, din care o parte rămîne în stare nediferențiată, embrionară și este dotată cu potențialități evolutive nelimitate (Maximow, 1927, p. 495 ; Bloom și Fawcett, 1965, p. 113). Celula desprinsă din reticul devine *celulă tulpină liberă*, unică după teoria monofiletică și dotată cu potențialități de diferențiere către toate liniile celulare hematoformatoare, denumită *hemocitoblast* sau *celula tulpină mare*. Participarea mezenchimală este evidentă în cursul diferențierii ontogenetice. În organismul adult sincițiul reticular reprezintă nucleul germinativ latent, mezenchimal, care nu va interveni în regenerarea celulară decît în condiții deosebite de stimulare fiziologică sau patologică (Maximow, 1927, p. 495 ; Bloom și Fawcett, 1965, p. 130).

În ultimii 18 ani s-au elaborat tehnici care au permis o explorare funcțională a hematopoiezei, fapt care a dus la dezvoltarea unei concepții mai dinamice asupra originii și modalităților de diferențiere a celulelor primitive hematopoietice. Noua teorie, bazată pe rezultate experimentale, preconizează de asemenea existența *unor celule tulpină unice*, pluripotențiale, de origine embrionară, care persistă în organismul adult și care, prin proliferarea lor, sînt sursa și originea întregului sistem de celule hematoformatoare (44). Cu ajutorul noilor tehnici și anume : formarea de colonii splenice *in vivo* (76), studiul himerelor de iradiere prin marcaj cromozomial (75), studiul hematopoiezei la embrioni și animale adulte parabiozate (50, 51, 79), s-a ajuns însă la o nouă concepție asupra originii celulelor tulpină hematopoietice, con-

Scanned with OKEN Scanner

siderate, după noile cunoștințe, de proveniență extraembrionară. Aceste celule tulpină asigură, prin migrarea continuă între diferitele organe ale sistemului hematopoietic, în totalitate limfo- și mielopoieza, atît în stadiul embrionar cît și în organismul adult.

De asemenea, prin dezvoltarea tehnicilor de explorare radioizotopică, cum sînt tehnica „sinuciderii" cu timidină tritiată (H^3 Ti) sau hidroxiuree (Hu) (31, 41), sau marcajul eritropoiezei cu Fe^{59} (1), a tehnicilor de cultivare a celulelor hematopoietice în culturi celulare (6, 65), a modelelor experimentale pentru studiul hematopoiezei la animale cu policitemie indusă prin anoxie sau transfuzii (55, 88), sau pentru studiul formării focarelor hemolitice de către celulele splenice ca răspuns la imunizarea cu eritrocite de oaie (FFU — focus forming units) (29), s-au putut defini caracterele funcționale ale celulelor tulpină pluripotente privitor la autoreînnoire și diferențiere, precum și factorii locali sau umorali care reglează aceste procese. Ele sînt definite ca celule nediferențiate și pluripotente care dau naștere celulelor sanghine specializate și, pe lîngă aceasta, au o capacitate de proliferare extinsă care duce la autoreînnoire.

Originea și căile de migrare ale celulelor tulpină

Till și McCulloch (76) au descris o tehnică pentru decelarea celulelor primitive hematopoietice prezente în cantități mici în splină și măduva osoasă (m.o.) la șoarece. Aceste celule injectate i.v. sub formă de suspensii celulare din m.o., splină, sac vitelin, ficat embrionar, au capacitatea de a forma colonii celulare vizibile macroscopic, de *linie eritrocitară, granulocitară* și *megacariocitară*, în splinele șoarecilor iradiați letal. Au fost denumite *colony forming units* (CFU) și numeroase experiențe au demonstrat că aceste celule sînt dotate cu potențialități diferențiatoare atît mielopoietice cît și limfopoietice, restaurînd la animalele iradiate hematopoieza medulară și timică și populația celulară din organele limfoide periferice (7, 87). Ele sînt considerate în hematologia modernă celule tulpină plu ripotente hematopoietice (44).

ORIGINEA CFU. CFU se găsesc în țesuturile embrionare (sac vitelin, ficat). În sacul vitelin s-au decelat în a 8-a zi de gestație la șoarece (înainte ca ele să apară în embrion), în insulele sanghine care apar în mezenchimul sacului vitelin, în cele mai primitive stadii ale hematopoiezei embrionare. Capacitatea hematoformatoare a celulelor primitive din ariile vasculare extraembrionare a fost demonstrată prin :

a) *capacitatea acestor celule de a forma colonii splenice.* Coloniile obținute au fost eritrocitare, granulocitare și megacariocitare pure, precum și colonii mixte. Proporția coloniilor este aceeași ca și atunci cînd se injectează celule de ficat fetal sau m.o. de șoarece adult ;

b) *capacitatea CFU de a repopula întreg sistemul hematopoietic la șoareci iradiați letal.* Proliferarea celulelor injectate în organele mieloide și limfoide ale primitorilor iradiați s-a demonstrat folosind tulpini cu marcaj cromozomic. Injectarea celulelor din sacul vitelin a restaurat și capacitatea imunologică a primitorilor iradiați, dovedind capacitatea de diferențiere a CFU embrionare și în celule imunologic competente (44).

În alte experiențe s-a demonstrat *dependența hematopoiezei intraembrionare de migrarea celulelor din sacul vitelin* (44). S-a arătat că, în timp ce activitatea hematopoietică se dezvoltă în ficatul embrionar de șoareci de 7 zile puși în culturi (de organe) cu saci vitelini intacți, hematopoieza nu se produce la embrioni similari, dar puși în culturi după ce li s-au îndepărtat sacii vitelini. Deci sacul vitelin trebuie să fie unicul loc de generare a celulelor tulpină hematopoietice și hematopoieza în alte organe este inițiată prin celulele tulpină care migrează din această arie hematopoietică extraembrionară. Aceste celule inițiază mai întîi hematopoieza hepatică, de unde se colonizează pe cale sanghină succesiv timusul, splina și măduva osoasă.

CFU și dezvoltarea hematopoiezei medulare

S-a observat mai demult că interschimburile de sînge în placenta sarcinilor multiple la mamifere duce la himerism al celulelor sanghine la animalele adulte, adică la prezența în circulație a celulelor aparținînd la două grupe sanghine diferite (21). Aceste observații arată că există o mișcare a celulelor tulpină hematopoietice între embrionii care poartă o circulație comună, precum și că aceste celule pot să se stabilească în organe hematopoietice și să persiste și în viața adultă. Moore și Owen (50, 51) au adus dovezi experimentale în acest sens: ei au efectuat la embrioni de pui de 4 zile operații de parabioză prin care s-a realizat fuzionarea sacilor vitelini, astfel încît fiecare pereche de ouă avea un singur sistem circulator comun. Între zilele 10 și 20 de incubație s-a cercetat apartenența grupală eritrocitară și sexul embrionilor pereche. La cei care erau de *sexe și grup sanghin diferit* s-au cercetat celulele m.o. pentru himerism celular. S-a văzut că himerismul reciproc este prezent din stadiile cele mai precoce ale dezvoltării măduvei hematopoietice la embrionii parabiozați și persistă ulterior în toate stadiile de hematopoieză embrionară și după ecloziune. Acest rezultat demonstrează că țesutul medular hematopoietic se dezvoltă dintr-o populație de celule tulpină circulante, care colonizează în cavitatea medulară a oaselor cam în a 12-a zi de incubație la embrioni de pui.

Este cunoscut faptul că stabilirea hematopoiezei medulare succede colonizării spațiilor medulare prin pătrunderea, odată cu vasele, a celulelor nediferențiate din mezenchimul subperiostic (34). După Met-

calf și Moore (44), tot în această etapă se poate vedea și acumularea unui mare număr de celule bazofile nediferențiate în capilarele medulare dilatate, celule care, după cum s-a arătat în experiențele de parabiozare, sînt de proveniență sanghină. După noua teorie, hematopoieza este asigurată prin proliferarea și diferențierea acestor celule. Rolul celulelor migrate din mezenchimul subperiostic, dispuse în afara vaselor, este de a organiza stroma reticulară celulară a m.o., care, după cum vom vedea, exercită o acțiune reglatoare locală în hematopoieză (8, 35).

CFU și dezvoltarea limfopoiezei

Limfopoieza embrionară la păsări și mamifere. Anatomia sistemului limfoid de la păsări a fost obiect de interes deosebit, deoarece, pe lîngă timus care are ca funcție producerea și trimiterea către alte țesuturi limfoide a limfocitului T, păsările mai posedă un al doilea organ limfoid major, anume bursa lui Fabricius, care lipsește la mamifere. Acest organ produce și trimite în organele limfoide periferice limfocitele B, precursorii direcți ai celulelor producătoare de anticorpi umorali, care sînt prezente și la mamifere, unde însă nu există un organ unic specializat în această producție celulară.

Originea limfocitelor timice. Moore și Owen (51), în aceleași experiențe de parabioză pe embrionii de pui, completate cu iradierea unuia din parabionți, au găsit la 4—16 zile de incubație, cînd timusul este complet limfoid, că 50% din celulele timice în diviziune la embrionul iradiat erau derivate de la partenerul parabiozat. Deoarece aceste celule erau limfoide, autorii conchid că *limfocitele din timusul embrionar provin din celulele tulpină venite prin sîngele circulant.* Momentul influxului inițial de celule tulpină în timus a fost determinat prin testarea capacității timusului explantat de la embrioni de pui și șoareci la diferite zile de incubație, de a efectua o diferențiere limfoidă *in vivo* în camere de difuziune implantate în corioalantoida embrionilor de pui (62). Explantele timice de la 9 și respectiv 12 zile au generat limfocite în aceste culturi, în vreme ce explante prelevate mai timpuriu nu au devenit limfoide nici după 6 zile de cultivare *in vivo*. Examenul histologic a arătat în timusul încă nelimfopoietic o componență uniformă de celule slab colorate; în timusul limfopoietic erau prezente și cîteva celule mai mari, cu citoplasma intens bazofilă, care din punct de vedere morfologic corespund hemocitoblaștilor descriși de Maximow (34). În microscopia electronică ele se deosebesc de celulele epiteliale timice prin nucleii mari, nucleolați și citoplasma mai densă datorită prezenței unui număr mare de poliribozomi (33). Faptul că aceste celule bazofile se văd pentru prima oară în timus în același timp cînd acesta începe să devină limfoid, aduce dovada că ele sînt celule tulpină. Celulele tulpină timice provin fie din sacul vitelin, unde hematopoieza

scade în acest stadiu, fie din ficatul fetal, unde hematopoieza este în curs de creștere.

O problemă încă nerezolvată este aceea dacă aceste celule tulpină sînt pluripotențiale sau au fost deja angajate către diferențierea limfoidă. Metcalf și Moore (44) au găsit celule tulpină pluripotente (CFU) în timusul embrionilor de șoarece de 12 zile, ceea ce sugerează că angajarea nu se produce înainte ca celulele tulpină să ajungă în timus. Natura exactă a interacțiunilor între rețeaua epitelială și celulele tulpină nu se cunoaște, dar este sigur că există influențe reciproce care induc diferențieri celulare. Astfel ,Owen și Ritter (62), în experiențele citate anterior au mai arătat că, dacă se cultivă în camere de difuziune un explant din zona în care apare mugurele incipient al timusului epitelial, recoltat înainte ca celulele tulpină să fi ajuns în această zonă, organizarea timusului epitelial nu se mai continuă. În alte experiențe s-a demonstrat că celulele mari, bazofile, care ajung în timus în faza imediat premergătoare diferențierii limfoide nu prezintă antigenii de membrană caracteristici limfocitelor timice la șoarece (antigenul Thy = theta și LT =leucemie timică). Dar dacă celulele din același explant sînt examinate la 2 și 4 zile după cultivarea explantului se constată că în aceste culturi devenite limfoide, au apărut și au devenit preponderente celulele Theta și LT pozitive (63). Se poate dovedi astfel că tranziția morfologică de la celulele mari bazofile la limfocite timice se asociază cu dobîndirea *in situ* a caracteristicilor antigenice membranare ale limfocitului T, fapt care susține existența unei influențe inductoare specifice a micromediului timic asupra genezei liniei limfocitelor T (21).

Originea limfocitelor B

La păsări, bursa lui Fabricius apare ca o evaginație în formă de sac din peretele dorsal al cloacei, a 5-a zi de incubație, iar în a 12-a zi grupe de celule epiteliale din plicatura bursală încep să prolifereze formînd foliculi în care se deosebesc ulterior celule limfoide. Limfocitele din foliculi sînt derivate din celulele tulpină migratoare, venite din sînge ; acestea se observă în foliculi după a 12-a zi de incubație și sînt similare cu cele descrise în timus în aceeași etapă (21). Studiile asupra efectelor bursectomiei efectuată în cursul embriogenezei susțin părerea că bursa este organul producător al limfocitelor responsabile de producția și secreția imunoglobulinelor : bursectomia la 17 zile de incubație duce la agamaglobulinemie completă la puii eclozați, de asemenea la absența centrilor germinativi și a plasmocitelor în cursul dezvoltării ulterioare, în organele limfoide periferice (11, 83). Sinteza imunoglobulinelor IgM este inițiată în celulele bursale în a 14-a zi de incubație, adică într-un interval de 24—48 de ore după sosirea aici a celu-

Scanned with OKEN Scanner

lelor tulpină, iar în momentul ecloziunii apare și sinteza de IgG (30). Limfocitele bursale migrează continuu în organele limfoide periferice și se regăsesc în foliculii limfoizi din pulpa albă splenică și cortexul limfoganglionar (11).

La mamifere, deși diferite țesuturi limfoide gastrointestinale au fost propuse ca echivalenți bursali (11), nu există dovezi sigure în acest sens. La mamifere, atît ficatul fetal (78), cît și m.o. (49) sînt surse de celule tulpină care se pot diferenția în limfocite B. În ontogeneza mamiferelor, țesutul mieloid din ficat și splină servesc, pe lîngă m.o., atît ca sursă de celule tulpină, cît și ca inductori ai maturației limfocitelor B. Dovezi directe au adus Nossal și Pike (57) care au găsit celule B în splina de embrion de șoarece înainte de a le găsi în alte organe hematopoietice. Odată cu dezvoltarea m.o. se admite că aceasta reprezintă sursa majoră de limfocite B. (Metcalf (47 b). Existența unei limfopoieze medulare active a fost demonstrată la șobolani (14), cobai (61). Cinetica marcajului cu H^3Ti și turnoverul rapid indică un ritm de reînnoire accelerat, similar cu acela din cortexul timic și exprimă același proces de migrare continuă a limfocitelor mici din m.o. care s-a constatat și în timus (14). Studiul populației celulelor limfoide medulare este dificil, deoarece acest grup conține o populație celulară foarte heterogenă funcțional, care, deși în microscopia optică prezintă morfologie asemănătoare liniei limfocitare, cuprinde și celule tulpină pluripotente (CFU) (15, 88) precum și alți precursori mai diferențiați ai liniilor celulare mieloide (53). Aceștia însumează însă numai o mică parte din proporția de 30% celule limfoide care se găsesc în mielograma normală la șoarece și șobolan. Dezvoltarea noilor tehnici de identificare a limfocitelor T și B a permis să se identifice în populația celulară limfoidă din m.o. prezența majoră a limfocitelor B, purtătoare de receptori de membrană imunoglobulinici (89). Limfopoieza medulară s-ar realiza prin intermediul celulelor limfoide mai mari, denumite „celule de tranziție", care ar putea constitui etapa intermediară între CFU și celulele limfocitare imature (61, 88). Prin studii la embrioni de șoarece s-a mai arătat că în diferențierea ontogenetică a celulelor B către celule capabile să sintetizeze și să secrete anticorpi umorali există o etapă splenică necesară, de maturație, în care se produce o creștere în densitate a receptorilor imunoglobulinici și de complement (19).

CFU și dezvoltarea fagocitelor mononucleare

Prin studii cu marcaj izotopic (H^3Ti) la șobolan, s-a demonstrat că macrofagele care apar într-un exsudat inflamator derivă din monocitele din sîngele periferic care își au originea în măduva osoasă (82). Prin marcaj izotopic (16) sau cromozomial (81) s-a arătat ulterior la șoarece că și în stare normală macrofagele tisulare (peritoneale, al-

veolare, celule Kupffer) derivă din monocitele sanghine avînd ca precursor direct promonocitul din m.o. Pe baza originii lor comune, morfologiei, prezenței receptorilor pentru fracțiunea Fc a imunoglobulinelor în membrana celulară, caracterelor histochimice și funcționale, aceste celule au fost grupate într-un sistem unic, anume *sistemul fagocitelor mononucleare* (17, 20). Printr-un procedeu special de cultivare *in vitro* a celulelor medulare s-au obținut colonii pure de monocite, în care au fost identificate trei tipuri celulare: *monoblastul*, celula cea mai imatură, *promonocitul* și *macrofagul*, care prezentau toate reacția pentru esteraza nespecifică pozitivă, caracter citochimic de identificare a liniei monocitare. S-au demonstrat de asemenea capacitatea de pinocitoză și fagocitoză (20). Cercetările întreprinse de Cline (10) la șoarece au reușit să urmărească înapoi originea embrionară a macrofagelor pînă la sacul vitelin: suspensii celulare din sacii vitelini de embrioni de 7—10 zile cultivate *in vitro* pe agar moale și *in vivo* în camere de difuziune, au generat macrofage și monocite înainte ca acestea să fie generate de suspensiile celulare de ficat fetal, care au fost capabile să genereze colonii monocito-macrofagice abia în a 11-a zi de gestație. Celulele din culturi au prezentat toate caracterele de membrană și funcționale specifice macrofagelor, care s-au regăsit și în macrofagele peritoneale și medulare ale animalelor. Observațiile autorilor demonstrează că sacul vitelin fetal, care nu conține monocite sau macrofage mature în această etapă, este locul de origine al *precursorilor imaturi* ai fagocitelor mononucleare.

Originea și activitatea celulelor tulpină pluripotente (CFU) în organismul adult. Potențialități de diferențiere celulară.

În organismul adult, sursa principală, și poate unică, de celule tulpină pluripotente este m.o., de unde se realizează, prin migrarea continuă, repopularea cu celule tulpină a timusului și prezența lor în curentul sanghin. În m.o. la șoarecele adult, CFU se găsesc în proporție de 0,3—3/10^3 celule nucleate, în splină 0,1—0,3/10^4 celule nucleate și în sîngele circulant și mai puțin: 0,2/10^5 leucocite (44).

Există dovezi că celulele tulpină din m.o. a animalelor adulte își mențin aceleași potențialități evolutive multiple, generînd celule mielopoietice cît și limfopoietice. Astfel, Wu și col. (87) au folosit markeri cromozomiali induși prin iradiere pentru a identifica descendenții celulelor tulpină medulare (CFU), după proliferare intensă în urma transplantării la șoareci iradiați letal. Celule cu cariotipul anormal s-au găsit în *m.o.*, *timusul* și *limfoganglionii* șoarecilor primitori precum și în *coloniile splenice* produse de m.o. grefată. Celulele din coloniile splenice au fost reinjectate la alți primitori iradiați, care ulterior au fost inoculați cu eritrocite de oaie. S-a constatat că limfoganglionii

acestor animale stimulate antigenic au conținut 65% metafaze cu marcaj cromozomic și de 5—10 ori mai multe focare hemolitice decît limfoganglionii șoarecilor martori. Se demonstrează astfel că celule aparținînd aceleiași clone ca și CFU ajung în limfoganglionii șoarecilor iradiați și aici își desăvîrșesc capacitatea de a participa într-un răspuns imunitar. Nowell și col. (58) la șobolan, folosind de asemenea ca donatori de m.o. animale marcate cromozomial prin iradiere, au arătat că celulele din coloniile splenice care s-au dezvoltat la primitorii iradiați au prezentat aceeași anomalie cromozomială găsită și în unele din limfocitele șobolanului donator, cînd acestea au fost stimulate să prolifereze într-o interacțiune cu limfocite de la șobolani hibrizi (MLR = mixed lymphocytes reaction).

Această experiență demonstrează că limfocite din sîngele periferic pot să derive din aceeași celulă tulpină cu celulele liniilor mieloide.

Alți cercetători au stabilit prin experiențe de transfer cu marcaj cromozomial la șoareci (56, 77) sau iepure (7) și stimulare antigenică, faptul că m.o. este sursa majoră a celulelor potențial imunocompetente la animalul adult, atît în reacțiile generatoare de anticorpi (FFU) cît și în reacțiile de imunitate celulară, — reacții de grefă-contra-gazdă (GVH) (77) sau MLR (58). Timusul, unde apar celule cu marcaj cromozomic după transplantul medular este organul în care celulele generate în m.o. se diferențiază în linia limfocitului T, acesta fiind efectorul reacțiilor menționate (GVH, MLR).

În alt gen de cercetări, Gandini și Gartler (18) au determinat conținutul enzimatic al limfocitelor, granulocitelor și eritrocitelor la om, studiind aceste populații celulare la femei adulte, heterozigote pentru glucozo-6-fosfat-dehidrogenazele de tip A și B, legate de cromozomul X. În fiecare din testele individuale cantitățile relative ale celor două tipuri de enzimă au fost totdeauna concordante în toate cele trei populații celulare la aceeași femeie, ceea ce sugerează că aceste trei populații celulare sînt menținute în viața adultă de către un stoc de celule tulpină comun.

Trebuie să remarcăm totuși că studiul genetic al celulelor din leucemia granulocitară cronică la om, care a evidențiat prezența cromozomului anormal (Ph^1) în toate liniile celulare mieloide și absența sa în limfocite (84) a adus un argument pentru ipoteza separării, la un moment dat al diferențierii, a potențialității celulelor tulpină. Se presupune că în organismul adult există un stoc redus de celule tulpină (mai primitive decît CFU) care sînt dotate cu potențialități de diferențiere totale, generînd atît celule mieloide cît și limfoide, dar că în cursul evoluției ontogenetice și postnatale, *majoritatea* celulelor tulpină au trecut printr-o primă etapă de diferențiere care le conferă calificarea fie ca celule tulpină angajate mieloid, fie ca celule tulpină

Scanned with OKEN Scanner

angajate limfoid, generînd fiecare separat toate liniile celulare din sistemul respectiv (3, 21, 44, 58).

Identificarea morfologică a celulei tulpină pluripotentă (CFU)

Identificarea morfologică a celulelor tulpină s-a realizat prin centrifugări diferențiate ale celulelor medulare în gradient de albumină (13) și studiul morfologic al celulelor din fracțiunea care dădea numărul cel mai mare de colonii splenice la șoareci iradiați letal, sau prin studiul morfologic și funcțional al celulelor care se păstrează intacte în cursul congelării și decongelării sub protecție de mediu glicerolat (68). Aceste studii s-au efectuat la șoarece. Ulterior, Dicke și colab. (13) au reușit printr-o tehnică specială de cultivare *in vitro* a concentratelor de celule tulpină medulare obținute prin centrifugări repetate în gradiente de densitate cu albumină, să demonstreze existența acestor celule tulpină pluripotente în m.o. a primatelor (maimuță și om). Transplantul *in vivo* la maimuțe iradiate a suspensiilor celulare din fracțiunea astfel obținută a realizat o restaurare hematopoietică totală, identică cu aceea realizată prin transplantul medular clasic. De asemenea, separarea pe baza diferențelor de densitate sau de volum a CFU care dau colonii splenice de CFU ce au crescut *in vitro* în sistemul de cultivare al autorilor nu a fost posibilă, ele fiind cuprinse în aceeași fracțiune și avînd aceeași viteză de sedimentare. Autorii au mai arătat, prin cultivare *in vitro* cu PHA, că fracțiunea în care se găsesc aceste CFU *nu conține limfocite*, excluzînd astfel ipoteza că limfocitele ar fi CFU (88).

Examenul morfologic în microscopie optică și electronică a arătat că CFU prezintă caractere foarte asemănătoare la șoarece, maimuță și om (fig. 1, 2, 3). Redăm în tabelul I caracterele morfologice și ultrastructurale ale celulelor tulpină hematopoietice (CFU) și ale limfocitelor după descrierile date de autorii citați. Se poate vedea că, la mărime celulară aproximativ egală sau numai ușor superioară (8—10 microni) și la un raport nucleo-citoplasmatic egal, CFU se caracterizează prin localizarea mai centrală a nucleului, caracterul fin dispersat al cromatinei nucleare, cu mici aglomerări numai lîngă membrana nucleară, prin prezența de 1—2 nucleoli, bine vizibili la examenul ultrastructural și prin conturul ondulat, cu numeroase plicaturi, ale membranei nucleare. Citoplasma, la fel de îngustă ca și la limfocit, are o culoare albastră palid, fără granule. Ultrastructural se văd numeroși ribozomi liberi și cîteva mitocondrii dispuse în pliurile membranei nucleare. Mitocondriile sînt distribuite uniform în jurul nucleului, spre deosebire de limfocit, unde localizarea este limitată la unul din poli. Citoplasma mai conține numai mici vezicule, în vreme ce citoplasma limfocitelor conține uneori aparat Golgi, urme de reticul

TABELUL

Caracterele morfologice ale CFU şi limfocitelor după diverşi autori

		CFU		LIMFOCIT M.O
Microscopie optică	Parametri	Dicke şi colab. (şoarece, maimuţă, om)	Rubinstein şi Troubaugh	Dicke şi colab.
Celula	Diametru	8 microni		7—8 microni
	Contur	rotund		rotund
Nucleul	Contur	rotund sau reniform		rotund sau ancoşat
	Structură	aproape omogenă		
	Culoare	roşu deschis		violet-purpuriu închis
Citoplasma	Culoare	albastru palid		albastră
	Granulaţii	absente		prezente, cîteva, violete
Microscopie electronică *Celula*	Diametru	7—10 microni	aproxim. 8 microni	8 microni
	Contur	neregulat rotund	rotund sau uşor oval	rotund
Nucleul	Contur	rotund cu mici dinţături	oval către rotund, ondulat	rotund cu ancoşă adîncă
	Nucleoli	1—2, mari	1 sau 2	invizibili în M.E.
	Cromatina	fin dispersată şi în parte floculată cu mici agregate la marginea nucleului	fin dispersată şi cu aglomerări mai dense lîngă membrana nucleului	
Citoplasma	Contur	îngustă	îngustă	îngustă
	Ap. Golgi	nu	nu	uneori prezent
	Retic. endopl.	nu	cîteva schiţe	urme
	Lizozomi	nu	nu	da
	Riboz. liberi	abundenţi	numeroşi	—
	Riboz. agreg.	puţini sau abs.	—	da
	Mitocondrii	cîteva, mici	cîteva, mici	—
	Vezicule mici	prezente	prezente	—
	Corpi multiveziculari	nu	—	da
	Corpi denşi	nu	—	da

endoplasmic și, în mod constant, corpi denși și multiveziculari, precum și lizozomi. În concluzie, examenul ultrastructural a permis deosebirea netă a celulei tulpină pluripotentă de limfocit.

Celulele tulpină descrise în m.o. la mamiferele adulte (șoareci, primate) se deosebesc de celulele tulpină descrise în țesuturile hematopoietice embrionare, care au aspect morfologic de celule blastice, bazofile (44), sînt mai mari, cu diametrul de 11 — 13 μm (24) și au o mai mare capacitate proliferativă (48); morfologic, sînt asemănătoare hemocitoblaștilor descriși de Maximow (34). Maximow menționează însă în dezvoltarea embrionară a măduvei hematopoietice, pe lîngă hemocitoblast, și tipul limfocit mic, *mai rar găsit* în această perioadă, iar în hematopoieza organismului adult el descrie ca celulă tulpină atît hemocitoblastul (forma de celulă mare) cît și „limfocitul mic". Și Maximow (34) și Metcalf și Moore (44) menționează existența a numeroase forme intermediare între hemocitoblești și celulele cu aspect de limfocit mic. Această heterogenitate, relatată și de alți autori, interesează atît volumul cît și densitatea celulară (24, 86), reflectînd influența micromediului medular, diferit de micromediul embrionar și extraembrionar în care are loc dezvoltarea celulelor tulpină hematopoietice în ontogenie (44).

Activitatea mitotică a celulelor tulpină hematopoietice (CFU)

Pentru determinarea proporției de CFU care sînt în ciclu celular activ s-a folosit tehnica „sinuciderii" cu timidină tritiată (H^3Ti) sau hidroxiuree (Hu). Acești agenți, administrați în doză citotoxică, au acțiunea de a omorî selectiv celulele care se găsesc în faza de sinteză de ADN a ciclului celular (faza S). Experiențele întreprinse de Lajtha și col. (citat de 31) și ale lui Kubanek și col. (31) la șoareci, prin administrare *in vivo* de H^3Ti sau Hu au arătat că în m.o. normală au fost devitalizate 10% din populația de CFU, în timp ce în m.o. a animalelor iradiate, adică în regenerare activă, procentul crește la 50%. Valori la fel de mari s-au obținut folosind CFU din organe embrionare *in vivo* (48) sau *in vitro* (44). În aceleași tehnici *in vivo*, Vassart și col. (80), la șoareci, au mai arătat că CFU care au supraviețuit *au traversat faza S în mod ciclic*, urmată de repopularea compartimentelor celulare mieloide. Date similare a obținut și Fliedner (15) la șobolan, folosind perfuzie continuă de H^3Ti pre și postnatal, în doză trasoare, și administrarea ulterioară de Hu pentru golirea compartimentelor de celule mielopoietice diferențiate. Regenerarea a început din celulele limfoide medulare care păstraseră marcajul (5%), producînd un val de celule mieloide marcate, concomitent cu dispariția limfocitelor marcate. Toate aceste rezultate experimentale demonstrează că în mod normal în organismul adult majoritatea CFU sînt în stare de repaos (Go). Trecerea

în ciclu celular activ este corelată cu necesitatea regenerării sau cu dezvoltarea ontogenetică a organelor hematopoietice, procese care solicită diferențierea și implicit și autoregenerarea populației celulare pluripotente.

Mecanisme reglatoare ale proceselor de proliferare și diferențiere ale celulelor tulpină pluripotente (CFU)

Există dovezi că micromediul din diferite organe hematopoietice (sau zone din același organ) poate influența proliferarea și diferențierea CFU în celule angajate în diferite linii celulare. Micromediul este alcătuit din celulele stromale ale organelor hematopoietice care pot juca un rol specializat în hematopoieză prin crearea condițiilor locale particulare, care să mențină și să dirijeze sensul proliferării CFU. Micromediul este de natură funcțională și poate fi creat prin difuziunea unor factori secretați de celule, cu domeniu de acțiune redus și care se găsesc în concentrație eficace numai pe o mică distanță de la sursa lor (44), sau prin contacte directe celulă-celulă (35). Acțiunea micromediului celular asupra sensului diferențierii este exemplificată în limfopoieza aviară, unde din stocul de CFU și sub influența a două condiții de mediu deosebite, se dezvoltă două linii celulare limfoide diferite. S-a mai demonstrat de asemenea, că mediul medular și splenic exercită influențe diferite asupra diferențierii liniilor mieloide : transplantul de celule medulare la șoarecele iradiat letal determină în m.o. o dezvoltare mai mare a focarelor granulopoietice, păstrînd proporția normală, în timp ce în splină predomină coloniile eritropoietice (85).

Influența micromediului și natura sa celulară s-au evidențiat și prin studiul anemiilor determinate genetic la șoarece (35). Șoarecii S_1/S_1^d prezintă o anemie macrocitară, care s-a dovedit că se datorează unui defect al micromediului celular. Anemia șoarecilor S_1/S_1^d nu se corectează cînd li se transplantează CFU normale, dar este ameliorată prin transplant de spline intacte de la donatori normali. De asemenea, splinele șoarecilor S_1/S_1^d iradiați letal nu sînt capabile să dezvolte colonii hematopoietice vizibile macroscopic pe nici una din cele trei linii mieloide, după transplant de celule medulare normale. Autorii presupun că produsele patologice ale genei S_1 afectează o parte a mecanismului prin care celule sau structuri din micromediu interacționează cu CFU pentru a regla funcția lor.

Aceste experiențe ar pleda pentru ipoteza că interacțiunile celulare care dirijează activitatea CFU ar fi de natură stimulatorie. Totuși alți autori au relatat rezultate care duc la altă interpretare. Astfel, s-a observat că la șoarece, anemia indusă prin fenilhidrazină a fost urmată de un răspuns eritroid puternic în m.o. și splină (66). Aceste modificări ale eritropoiezei s-au asociat cu modificări în compartimentul

celulelor tulpină : *CFU din m.o. au scăzut*, în parte din cauza diferențierii în sens eritropoietic, în parte prin migrarea lor în splină. *Pe măsură ce CFU din m.o. scădeau, CFU restante intrau în ciclu. În splină, unde numărul de CFU crescuse prin migrarea lor din m.o. CFU au rămas în stare de Go.* Chervenick și Boggs (9) au mai arătat că autoreînnoirea CFU medular după depleție masivă provocată prin iradiere la șoareci începe aproape imediat, iar dacă numărul de CFU a scăzut pînă sub 10% din valorile normale, diferențierea nu se inițiază decît atunci cînd se atinge din nou această limită. *Această dinamică sugerează că dimensiunea compartimentului de CFU dintr-un organ este importantă pentru reglare și că densitatea populației celulare este operativă, poate printr-un mecanism analog cu inhibiția de contact.* În alte experiențe în care s-a urmărit *depleția selectivă a compartimentelor de celule medulare în curs de maturație*, prin testul „sinuciderii" cu H^3Ti sau Hu (80) sau prin pletoră provocată prin hipoxie (55), la șoareci, s-a văzut că această depleție poate determina diferențierea celulară din compartimentul de CFU, care este de asemenea urmată imediat de intrarea în ciclu a CFU restante. Aceste rezultate confirmă și ele rolul reglator al mecanismelor locale, intramedulare, atît pentru proliferarea, cît și pentru diferențierea CFU.

În alte experiențe, relatate de Stohlman și col. (74), s-a constatat că CFU migrează din m.o. în splină după administrarea unei injecții unice de Bordetella pertussis, dar, contrar cu ce se întîmplă la animalele anemice (66), CFU din splină au intrat în ciclu și majoritatea s-au menținut în ciclu activ timp de 36 ore, cu toată creșterea marcată a compartimentului de CFU splenice. Autorii presupun că antigenul a modificat membrana celulară, împiedicînd astfel procesul de recunoaștere și permițînd intrarea în ciclu a CFU. Restabilirea ulterioară a procesului de recunoaștere a dus la inhibiția cauzată de creșterea populației celulare și CFU au revenit în Go. Pe baza experiențelor citate, Stohlman (73) consideră că, compartimentul CFU este reglat în parte prin *interacțiuni inhibitoare cu rază de acțiune scurtă*, de la celulă la celulă, și că *modificarea suprafețelor celulare* poate afecta recunoașterea și duce la o expansiune a dimensiunilor compartimentului.

Unele dovezi sugerează că CFU trebuie să fie afectate de asemenea prin *influențe umorale*, de la distanță. Stohlman și col. (74) urmăresc această problemă prin cercetarea conținutului în CFU a m.o. normale din camerele millipore *implantate la animale* (șoarece, șobolan) *normale și animale cu neutropenie* provocată prin tratament cu ciclofosfamidă. În acest sistem se elimină migrarea și se pot evalua efectele unei reglări umorale de la distanță. Numărul de CFU în ciclu celular activ din implante a crescut, precum și numărul total de CFU, dar creșterea la animale neutropenice a fost semnificativ mai mare decît la

Scanned with OKEN Scanner

animale normale. O activitate proliferativă crescută a CFU s-a obținut și prin transplant de celule medulare la șoareci iradiați letal, pretratați cu ciclofosfamidă (22). Proliferarea crescută la animale neutropenice se datorează unor factori umorali generați în organismul gazdă de tratamentul cu ciclofosfamidă și care ar stimula diviziunea CFU (22).

Din această expunere reiese că reglarea activităților celulelor tulpină pluripotente este complexă și că este necesară o mai completă cunoaștere a caracteristicilor membranelor celulare înainte de a se rezolva definitiv mecanismele acestor reglări. Pare sigur că în reglare sînt implicați trei factori și anume :

1. *Dimensiunile populației celulare din însuși compartimentul de CFU;*
2. *Interacțiuni locale celulă-celulă*, posibil mediate de factori cu rază de acțiune scurtă;
3. *Influențe umorale la distanță* prin factori cu rază lungă de acțiune.

Unele rezultate din experiențele citate sugerează existența la nivelul populației de celule tulpină a unei competiții în adjudecarea priorităților pentru diferențiere. Stohlman (74) a constatat că, dacă se iradiază un șoarece policitemic cu un membru protejat, se produc mai multe celule mieloide decît în aceeași experiență efectuată la un animal nepolicitemic. Kubanek și col. (31) relatează de asemenea o înmulțire a precursorilor mieloizi la șoareci menținuți pletorici, și dimpotrivă, scăderea mielopoiezei atunci cînd este stimulată eritropoieza prin sîngerare sau eritropoietină. Prioritatea diferențierii CFU într-o anumită linie este o realitate generată de circumstanțe precise, care probabil influențează în mod specific compoziția micromediului și interacțiunile locale celulare.

Celule tulpină angajate sau celule progenitoare de linie și mecanisme reglatoare

În privința modalității de diferențiere a celulelor tulpină pluripotente în diferite linii celulare hematopoietice, teoria propusă de Metcalf și Moore (44) presupune existența unor tipuri celulare intermediare între CFU și celulele blastice cap de serie, identificabile morfologic în preparatele uzuale. Aceste tipuri celulare intermediare pentru care s-a propus denumirea de *celule progenitoare de linie* (44) sau *celule tulpină angajate* („committed") (74) ar reprezenta o primă etapă de diferențiere a celulelor tulpină prin care se limitează evoluția ulterioară la o singură linie celulară. Celulele tulpină angajate, spre deosebire de celulele tulpină pluripotente, au o capacitate redusă de autoreînnoire și, dimpotrivă, o activitate proliferativă heteroplastică continuă. Ele sînt sensibile la factori reglatori umorali specifici, care sînt considerați că nu acționează asupra celulelor tulpină pluripotente.

Scanned with OKEN Scanner

Celulele tulpină angajate (= progenitoare) pot fi cultivate *in vitro* în prezența factorilor stimulatori specifici, generînd în medii adecvate, colonii celulare care conțin celule din toate treptele de maturație a unei linii celulare, motiv pentru care au fost denumite și celule formatoare de colonii *in vitro* sau CFC. Dao și Metcalf (12) deosebesc 5 tipuri de celule progenitoare și anume: 1) celule progenitoare eritropoietice (E—CFC), denumite și, „celule capabile să răspundă la eritropoietină" (ERC); 2) celule progenitoare ale granulocitelor neutrofile și ale liniei monocito-macrofagice, (GM—CFC), după acești autori ambele linii fiind derivate dintr-o celulă progenitoare comună; 3) celulele progenitoare ale granulocitelor eozinofile; 4) celule progenitoare de megacariocite; 5) celule progenitoare limfoide. În limfopoieză se deosebesc două tipuri de celule progenitoare: celule progenitoare ale celulelor anticorpo-formatoare (celule B) și celule progenitoare ale celulelor antigeno-reactive, adică ale tuturor tipurilor de celule T.

a) Celule sensibile la eritropoietină

Folosirea Fe^{59} ca marcaj specific pentru celulele care sintetizează hemoglobina (Hb) (1) a permis identificarea tipului celular celui mai primitiv care a sintetizat Hb: la animale sîngerate (cîini) au apărut un număr mare de celule marcate, iar proeritroblaștii erau marcați în proporție de 100%. Curba de scădere a numărului proeritroblaștilor marcați și apariția altor proeritroblaști nemarcați a fost o dovadă că aceste celule erau derivate din alte celule (progenitoare), asupra cărora a acționat factorul stimulator endogen, eritropoietina, crescută prin sîngerarea animalelor. Prin alte experiențe, s-a arătat că plasma și urina animalelor anemiate prin sîngerare provoacă stimularea eritropoiezei la animalele normale de aceeași specie. Tehnica de studiu a ERC și eritropoietinei cuprinde marcajul celulelor eritropoietice pentru Hb prin reacția cu benzidină (reacția Lephène) sau fier izotopic (Fe^{59} sau Fe^{55}) și modele experimentale, în care se realizează o suprimare preliminară a eritropoiezei normale prin policitemie (anoxie, transfuzii masive de sînge) cu studiul acțiunii ulterioare a eritropoietinei. S-a arătat că în aceste condiții injectarea eritropoietinei a inițiat sinteza *Hb în celule dintr-un stadiu mai primitiv decît proeritroblaștii*, și anume în unele celule din grupul *celulelor de tranziție* aparținînd populației limfoide medulare (67, 88). După cum am mai menționat, celulele de tranziție constituiesc o populație limfoidă heterogenă în care sînt cuprinse și celulele progenitoare ale diferitelor linii celulare (53, 88).

ERC se deosebesc de CFU prin faptul că se găsesc continuu în ciclu celular activ, chiar cînd eritropoieza este inhibată prin policitemie. Prin testul „sinuciderii" cu H^3Ti sau Hu s-a văzut că 75% din ERC

sînt permanent în faza S (31). Eritropoietina are acțiune derepresoare asupra genelor care inițiază sinteza Hb (hemului) și prin aceasta determină diferențierea ERC în proeritroblaști. Prin cultivarea ERC *in vitro* s-a arătat că, în absența eritropoietinei, ERC prezintă aceleași cicluri frecvente, dar nu trec în linia de maturație. Adaosul eritropoietinei în culturi determină diferențierea în celule eritroide identificabile (64, 72). Paul (64) a demonstrat că și după acest stadiu, rata de maturare este controlată de eritropoietină prin menținerea sintezei ADN și a mitozelor în eritroblaștii imaturi.

Din punct de vedere chimic eritropoietina este o glicoproteină cu greutate moleculară 60—70 000, găsindu-se în plasmă și urină. Organul producător este rinichiul, nu se știe dacă direct sau prin secretarea unui cofactor (eritrogenina), care are rol activator asupra precursorului plasmatic inactiv al eritropoietinei. Se crede că formarea eritrogeninei este inhibată de eritropoietină, fapt care sugerează existența unui mecanism feed-back în reglarea activității acestui hormon (44).

b) Celule sensibile la CSF (colony stimulating factor) : celule progenitoare granulocitare și monocito-macrofagice

Primele încercări prin care s-a obținut creșterea sub formă de colonii a celulelor hematopoietice *in vitro* (6) au arătat că suspensii de celule medulare sau splenice de șoarece sînt capabile să prolifereze într-un mediu pentru culturi de țesuturi făcut semisolid prin adaos de agar sau metilceluloză, cu condiția ca acest mediu să fie suplimentat cu un factor reglator al creșterii celulare (factor stimulator sau CSF), mediul devenind astfel *condiționat*. Ulterior s-au obținut în sistem similar culturi celulare din m.o. la maimuță (13, 53) și om (65). În culturile monostrat realizate în cutii Petri se observă începînd din a treia, a patra zi de incubație, formarea de agregate celulare, unele mici, pînă la 50 celule care s-au denumit *clusters* (ciorchini), altele mai mari, depășind uneori 1 000 de celule, denumite colonii. Toate agregatele conțin celule granulopoietice iar în cursul creșterii populației celulare din fiecare agregat se produce și maturația celulară cu apariția succesivă a tuturor formelor intermediare, pînă la granulocite mature. În unele agregate se constată dezvoltarea paralelă a două linii celulare, granulocitară și macrofagică. Celulele mature sînt dotate cu toate capacitățile funcționale care le caracterizează *in vivo* (10, 12). Celulele care proliferează în aceste culturi sînt GM—CFC, progenitoarele granulopoiezei și monocitopoiezei (47b). Pentru cultivare se folosesc subpopulații de celule medulare fracționate prin centrifugare în gradient continuu de albumină, care conțin pînă la 25% CFC (13, 53).

Scanned with OKEN Scanner

Coloniile apar fiecare prin proliferarea unei singure celule. Natura clonală a coloniilor a fost demonstrată prin transplantarea unei singure celule, izolată din *cluster* precoce de două celule, în alt flacon de cultură (40, 53). Experiența a permis de asemenea să se constate că la șoarece și maimuță se obțin astfel colonii mixte, de granulocite și macrofage, demonstrînd existența unei celule progenitoare comune acestor două linii celulare. Alți autori (20) au arătat însă că la șoarece se pot obține colonii separate folosind un mediu lichid cu lamele de sticlă plutitoare. Coloniile apar separate în aceste condiții, cu posibilități de identificare celulară pînă la monoblast și respectiv, mieloblast. Faptul a fost confirmat și la om (39), unde s-au obținut din celule medulare colonii separate granulocitare neutrofile 60—90%, granulocitare eozinofile 10% și monocito-macrofagice 30%. Coloniile monocito-macrofagice nu provin din coloniile granulocitare; la om, coloniile granulocitare își păstrează morfologia pînă se lizează, la 20 de zile de cultură (39). Faptul că toate aceste tipuri de colonii se dezvoltă în prezența aceluiași factor stimulator este totuși un argument în favoarea afirmației că aceste linii celulare au o singură celulă progenitoare. Totuși și Metcalf admite că ar fi o celulă progenitoare proprie liniei macrofagice, generînd macrofage de tip peritoneal (47b).

Originea și morfologia CFC

Tehnicile de separare celulară și de îmbogățire în CFC și CFU a unor fracțiuni medulare prin centrifugare în gradient continuu de albumină (25, 53), sortarea după volum determinat prin viteza de sedimentare (86) sau după proprietatea de aderență la sticlă (45) combinate cu tehnicile de studiu ale cineticii celulare, cum este evaluarea încorporării H^3Ti (53) precum și examinarea microscopică a celulelor din fracțiunile bogate în CFC, au permis caracterizarea morfologică și fiziologică a CFC la embrion și adult. S-a arătat că la maimuță CFC sînt celule mononucleate cu diametrul între 9—11 microni, cu citoplasma redusă, slab bazofilă, lipsită de granule, nucleul relativ dens, ușor oval sau ancoșat (47b). În viața fetală CFC sînt mai mari și mai palid colorate, mai puțin dense decît la adult. Ele apar în sacul vitelin și prezintă în ontogenie o dinamică asemănătoare cu diamica CFU din care provin (47, 47b). Experiențele arătate au mai demonstrat că CFC (celule decelate prin metoda culturilor) nu sînt identice cu CFU (celule decelate prin testul coloniilor splenice). Ele se deosebesc ca densitate, mărime, viteză de sedimentare, morfologie și se găsesc în fracțiuni medulare diferite. Contrar CFU, CFC sînt în majoritate în ciclu celular activ: prin expunerea *in vitro* la doze letale de H^3Ti s-a văzut că frecvența CFC în suspensiile celulare medulare se reduce cu 30—40%, ceea ce înseamnă că toate aceste celule erau în faza S a ciclului în mo-

Scanned with OKEN Scanner

mentul expunerii la H^3Ti (27, 31, 41). În contrast cu activitatea proliferativă mare, frecvența CFC în organele hematopoietice de la diferite specii de mamifere este foarte scăzută. Astfel, proporția de CFC este între 20—100 la om, 200 la maimuță, 250 la șoarece pentru 10^5 celule medulare (47), ceea ce demonstrează că CFC au o capacitate limitată de autoreînnoire și, dimpotrivă, o mare capacitate de diferențiere, părăsind astfel compartimentul CFC.

Factorul stimulant al coloniilor (CFS)

Dezvoltarea coloniilor de granulocite și macrofage depinde *in vitro* de o glicoproteină specifică, produsă de numeroase tipuri celulare, care pot fi folosite, sub formă de strat subjacent, ca sursă de CSF în culturile pe agar. Cele mai bune surse de CSF pentru culturile de m.o. umană sînt leucocitele din sîngele periferic (65) și dintre acestea, monocitele au cea mai mare activitate (52). Se mai pot folosi de asemenea fibroblaști sau celule embrionare (13). O activitate CSF se găsește în serul uman (47), ser de șoarece iradiat (47), ser de șoarece injectat cu endotoxină (10, 74). Celulele stimulante se găsesc în mod normal în m.o. umană, care prezintă o producție endogenă de CSF. Îndepărtarea lor prin centrifugare diferențială (53) sau prin tehnica aderenței la sticlă (39) suprimă formarea de colonii în absența de CSF exogen. La șoarece celulele stimulante sînt aderente de peretele osos și numai prin introducerea fragmentelor de os în culturi se poate demonstra această activitate (8). Populația celulară din m.o. care produce CSF nu s-a identificat cu certitudine. În grupul celulelor separate prin procedeele menționate se cuprind monocitele și macrofagele, dar și *celulele ce alcătuiesc stroma m.o.*, care s-au dovedit rezistente la iradiere și capabile să producă CSF (8).

Natura și activitatea CSF

CSF s-a obținut purificat din urina umană. Este o glicoproteină cu greutate moleculară 45 000. Generarea CSF din țesuturi este crescută în neutropenii, dar factorul esențial pentru creșterea CSF este endotoxinemia provocată de infecții (47, 74). Adaosul de anumite antigene în culturi stimulează formarea coloniilor (38, 42), iar injectarea acelorași antigene la șoarece determină o creștere a CSF seric care se asociază cu proliferarea *in vivo* a CFC și cu un val succesiv de diferențiere a CFC în sens granulopoietic (38, 43, 74). Din experiențele citate se dovedește că acționînd ca reglator umoral CSF este un inductor al proliferării și diferențierii CFC. Aceste date susțin concepția că mielopoieza este reglată de un *circuit feed-back din sîngele periferic, care depinde de o funcție a concentrației neutrofilelor periferice și nu de numă-*

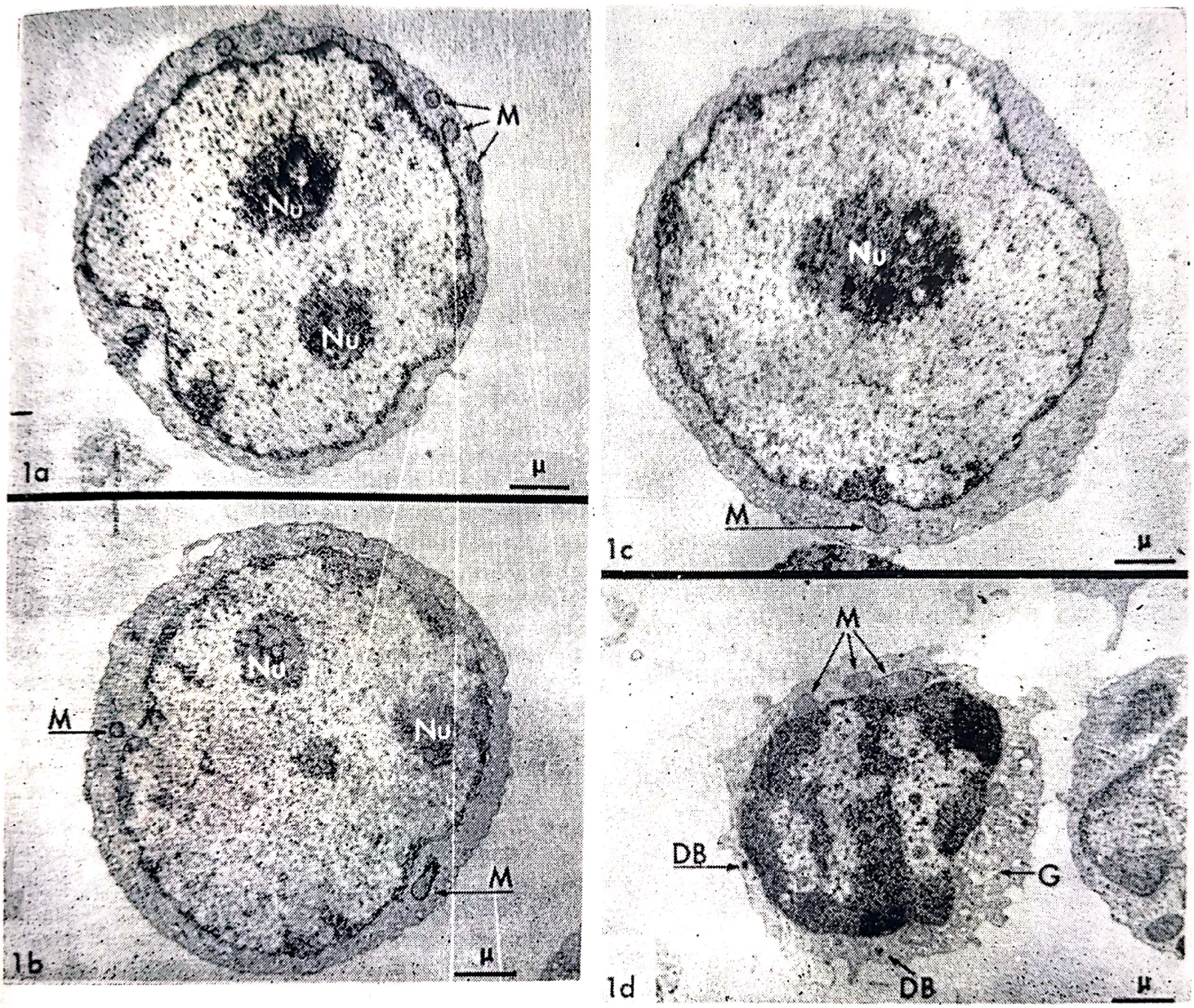


Fig. 1.

Secțiuni în microscopie electronică ale unei „candidate" la celula tulpină hematopoietică — la om **(a)**, șoarece **(b)** și maimuță **(c)**.

De notat similitudinea celulelor la diferite specii. Forma este rotundă, diametrul 8—10 microni. Nucleul rotund, cu dințături. Se văd 1—2 nucleoli mari. Cromatina nucleară fin dispersată, cu mici agregate la marginea nucleului. Citoplasma cu lizereu îngust și absența următoarelor organite : ap. Golgi, reticul endoplasmic, corpi multiveziculari, lizozomi și ribozomi agregați. Se văd cîteva mici mitocondrii. În (d) un limfocit mic din măduva osoasă umană. Cromatina nucleră prezintă largi zone de densificare, alături de mici zone luminoase. Nu se văd nucleoli. Citoplasma conține corpi denși (DB), vezicule de diverse mărimi, ap. Golgi (G) bine dezvoltat, mitocondrii (M), largi, ribozomi agregați. Nu = nucleol. (După *Dicke* și colab., 1973).

Scanned with OKEN Scanner

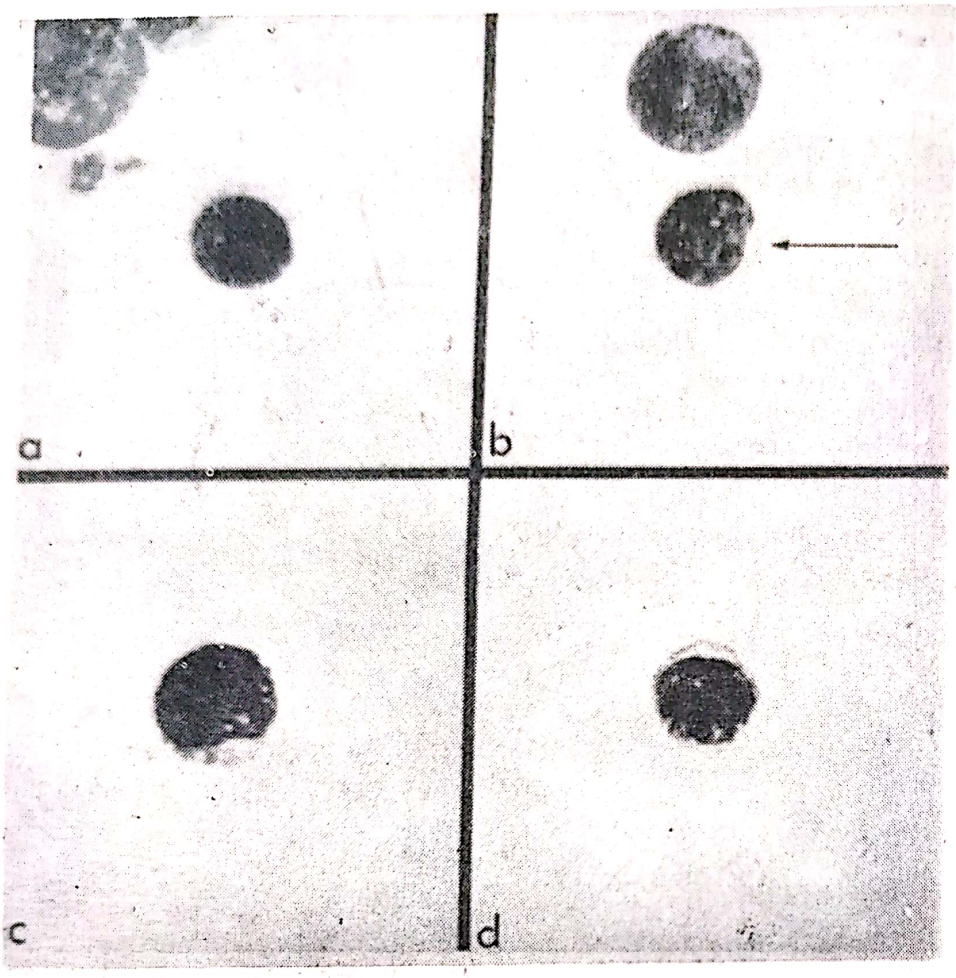


Fig. 2
Celule tulpină hematopoietice la om (a), maimuță (b, săgeata) și șoarece (c). În (d) limfocitul mic. (După *Dicke* și colab., 1973).

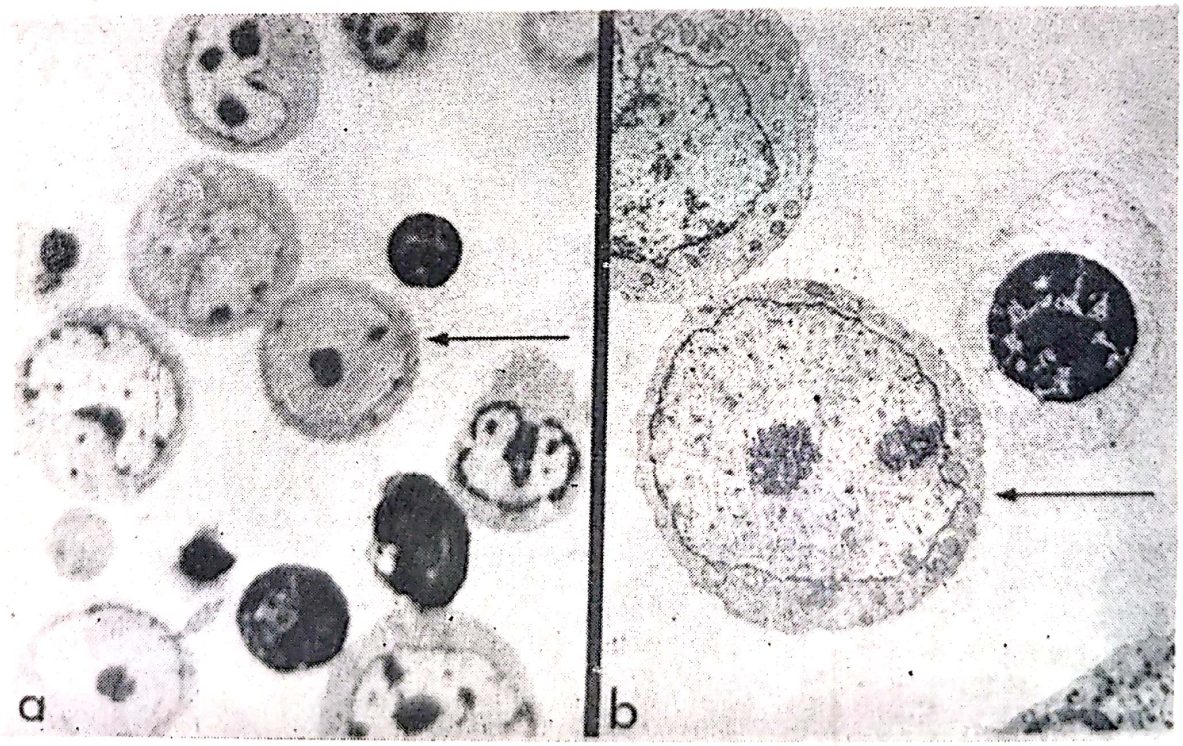


Fig. 3
Celulă tulpină hematopoietică (săgeata) în cultură de CFU îmbogățită, de măduvă oscasă de maimuță, — în microscopie optică (a) și electronică (b). (După *Dicke* și colab., 1973).

Scanned with OKEN Scanner

rul lor, întrucît CSF se generează la animalele neutropenice (74). Demonstrarea producției intramedulare de CSF (8, 39) și a creșterii acestei producții la animale iradiate (8) este un argument în sprijinul teoriei, indicînd că „semnalul" deficienței funcționale a organului efector periferic este recepționat de celule locale, (dintre care unele *nu sînt hematopoietice*), care elaborează un factor umoral cu rol stimulator asupra mielopoiezei.

Activitatea CSF este extrem de specifică : molecula acționează *in vitro* asupra formării acestor linii celulare și nu are efect asupra liniilor eritrocitară și limfocitară (12).

În serul normal de om și șoarece au fost identificate și substanțe cu acțiune inhibitoare asupra proliferării celulelor din coloniile granulocitare. Sînt substanțe de natură lipoproteică, inhibînd CSF și avînd specificitate de specie. La om nu inhibă formarea „clusterelor" ci numai a coloniilor (46). Factorii inhibitori s-au decelat la 98% din subiecții normali și au fost foarte scăzuți la bolnavii cu leucemie acută mieloblastică (46), fapt care sugerează că în organism acești factori ar face parte din mecanismul reglator umoral al granulopoiezei, posibil prin acțiune represoare, dar nu se știe încă nimic despre țesutul care îi produce (47).

c) Celule progenitoare megacariocitare și reglarea plachetopoiezei.

Originea megacariocitelor dintr-o celulă tulpină comună cu liniile granulocitară și eritrocitară a fost demonstrată la șoarece prin testul formării coloniilor splenice la animale iradiate (76) și la om prin prezența în leucemia granulocitară cronică a cromozomului Ph^1 în celulele din toate aceste trei linii celulare (84).

În ceea ce privește celulele progenitoare, s-au efectuat relativ puține cercetări, dar rezultatele pledează pentru existența unui compartiment celular angajat, megacariocitopoietic, intermediar între CFU și primele celule imature identificabile morfologic ca aparținînd liniei megacariocitare. Cercetările s-au bazat pe observația că numărul plachetelor din sîngele periferic are un efect reglator asupra masei megacariocitare medulare și asupra producției de plachete din megacariocite, în sensul că menținerea unui nivel scăzut de plachete în circulație induce o creștere a numărului de megacariocite în m.o. și a producției de plachete (60) și invers, trombocitoza indusă prin transfuzii de plachete duce la o scădere a masei megacariocitare și a producției plachetare (23). Modelele experimentale au urmărit crearea unei plachetopenii marcate (sub 5% din nivelul inițial) prin administrarea intravenoasă de ser antiplachetar (28, 60) sau prin exsanghinotransfuzie cu sînge deplachetizat (23, 69). Studiul megacariocitopoiezei s-a rea-

Scanned with OKEN Scanner

lizat prin determinarea: numărului absolut și relativ de megacariocite din fiecare etapă de maturație, mărimea celulară și indicele mitotic (endomitoze), dinamica marcajului după administrarea unei doze trasoare de H^3Ti (23, 60), captarea selenometioninei sau a sulfatului de sodiu marcat în megacariocite prin măsurarea radioactivității plachetelor din sîngele periferic (23, 69). Rezultatele obținute de Harker (23) și Odell și col. (60) la șobolan, au arătat că plachetopenia indusă a determinat în mai puțin de 24 de ore o creștere *numerică absolută* a megacariocitelor cu o *creștere relativă de 3—400%* a tipului I megacariocitar (megacarioblești, singurele celule care sintetizează ADN și își cresc ploidia nucleară prin endomitoză). Marcajul cu H^3Ti a apărut repede în megacariocitele de tip I care erau marcate 100% la șobolanii plachetopenici. *Deoarece megacariocitele tipului I nu se mai divid (citochineză), creșterea lor numerică arată că s-a produs un influx crescut de celule în populația identificabilă, dintr-un compartiment precursor.*

Cercetări mai recente (28) au izbutit să identifice celulele progenitoare megacariocitare prin evidențierea activității histochimice a acetil-colinesterazei (AChE), care este prezentă în m.o. exclusiv în celulele liniei megacariocitare — și prin imunofluorescență, cu ser antiplachetar marcat fluorescent. Aceste caractere s-au găsit în celulele seriei megacariocitare, precum și la un număr scăzut de celule mai mici, cu *aspect limfoid*. Acestea au prezentat o creștere numerică semnificativă la șobolanii plachetopenici, care a fost urmată de creșterea numerică a megacariocitelor de tipul I. Schema propusă de Odell (59),

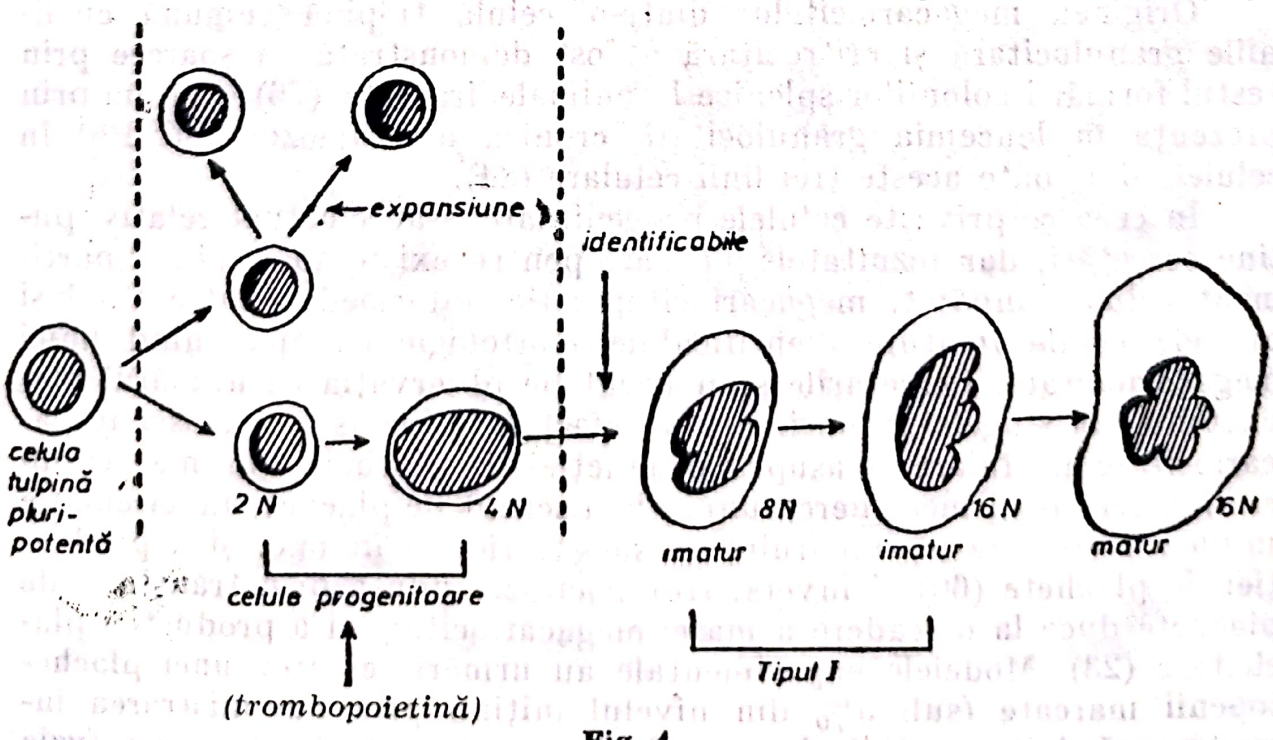


Fig. 4
Diferențierea și expansiunea celulelor progenitoare megacariocitare (după Odell)

redată în fig. 4, prevede următoarele modalități de diferențiere și expansiune a celulelor progenitoare megacariocitare:

—se vede că, în concepția autorului, are loc o primă diferențiere din celula tulpină pluripotentă, iar maturația începe de la celule tulpină deja angajate. Citochineza se produce numai în compartimentul celulelor tulpină pluripotente și în unele celule din compartimentul diploid angajat. Celelalte își încep maturația prin trecere la endoploidie, ajungînd la stadiul de megacariocit 8N imatur, identificabil morfologic. Sinteza ADN se produce la toate treptele stadiului imatur și se poate opri la oricare din ele între 8N și 32N la șobolan și între 8N și 64N la om (59).

Reglarea producției de plachete

Experiențele citate în paragraful precedent au arătat că trombocitopenia declanșează un mecanism reglator homeostatic care acționează pentru refacerea numărului de plachete prin : a) creșterea ratei de intrare a megacariocitelor nou formate în populația celulară megacariocitară ; b) s-a mai remarcat și o creștere a numărului endomitozelor, realizînd megacariocite mai mari, cu mai multă citoplasmă plachetogenă și o scurtare a timpului de maturație (23, 60). În alte experiențe în care s-a realizat dimpotrivă o stare de trombocitoză, s-a produs o inhibare a producției de plachete, cu scăderea captării izotopilor, scăderea numărului total de megacariocite, scăderea mărimii celulare și a poliploidiei nucleare (23, 59, 69). Aceste rezultate demonstrează că producția de plachete este reglată de un mecanism homeostatic cu acțiune feed-back pozitivă și negativă, corelat cu numărul de plachete. Se crede că acest mecanism este mediat de un factor reglator umoral denumit trombopoietină sau TSF (thrombopoiesis stimulating factor). Existența TSF a fost sugerată de constatarea că administrarea la primitori normali sau la primitori cu trombocitopoieza inhibată experimental, de plasmă de la un animal trombopenic determină o creștere a megacariopoiezei și a numărului de plachete. Plasma de la animale cu trombocitoză indusă nu are același efect (59, 69). Mai recent, McDonald (36) a preparat TSF purificat din serul oilor injectate cu ser antiplachetar. Cu ajutorul TSF și a unui ser anti-TSF preparat pe iepuri, a elaborat două teste de cercetare a activității TSF, un test biologic cu urmărirea efectului TSF asupra captării izotopilor, și unul imunologic prin care se obține și o dozare a activității TSF. Aplicarea acestor procedee noi va aduce informații mai precise asupra originii și modului de acțiune a TSF la nivelul celulelor primitive megacariopoietice.

Scanned with OKEN Scanner

d) Celule progenitoare limfoide și mecanisme reglatoare

Deși diferențierea celulelor limfatice este mult mai complexă decît aceea a liniilor mieloide, s-a aplicat și în această linie celulară dublă conceptul celulelor progenitoare unipotente, înțelegînd prin aceasta celule derivate în unul sau altul din cele două sensuri limfoide, din celula tulpină pluripotentă sau din elementele a căror destinație limfoidă a fost deja determinată (3). Celulele tulpină vor deveni, sub influența micromediului epitelial timic, celule progenitoare ale celulelor antigeno-reactive și vor genera limfocite T, iar sub influența micromediului bursal sau al celui al m.o. la mamifere, celule progenitoare ale celulelor anticorpo-formatoare și vor genera limfocite B. Se admite că *factori inductori locali* determină proliferarea și diferențierea acestor celule progenitoare, al căror produs final sînt limfocitele timice și respectiv celulele B, care, în cursul acestui proces își dezvoltă fiecare separat caracterele de membrană specifice (21). Această primă etapă de diferențiere a sistemului limfoid imunocompetent *este independentă de antigen* (3, 21, 44).

Evoluția limfocitelor timice: experiențe la șoareci (2, 63) au arătat că limfocitele T periferice se deosebesc de limfocitele timice : ele conțin de 5—8 ori mai puțin antigen theta, sînt TL negative și au mai mult antigen de histocompatibilitate pe suprafața lor. Aceste observații sugerează că, în urma unei prime trepte de diferențiere din celula progenitoare către limfocitul timic, există o a doua treaptă de diferențiere de la limfocitul timic la limfocitul T periferic și că aceasta implică o reorganizare a structurii suprafeței celulare. Nu este însă sigur dacă această „maturare" se produce în timus sau după ce limfocitele timice ajung în organele limfoide periferice. Limfocitele timice antigeno-reactive, migrate în organele limfoide periferice, *devin celule efectoare sub influența antigenului.* Inițierea răspunsului imun se face pe baza selecției clonale și implică legarea determinanților antigenici de către molecule similare anticorpice de pe suprafața celulară (receptori imunoglobulinici de antigen). Se admite că receptorii imunoglobulinici ai limfocitelor T sînt situați mai profund în membrană, sînt în număr mai mic decît pe celulele B și sînt numai din lanțul IgM și L, de acee a sînt mai dificil de evidențiat. Greaves și colab. (21) au dovedit indirect existența și natura imunoglobulinică a acestor receptori ai limfocitelor T prin neutralizarea activității lor cu ser antiimunoglobulinic. Cînd vin în contact cu antigenul, limfocitele T se diferențiază, în funcție de antigen, în mai multe tipuri celulare T : ele pot să primească în splină o „educație" imunologică și să devină *celule ajutătoare* („helper"), care cooperează cu limfocitele B pentru a produce anticorpi umorali în cazul antigenelor timodependente ; să exercite *memoria*

Scanned with OKEN Scanner

imunologică și să treacă în compartimentul celulelor antigeno-reactive specifice ; să intre într-un stadiu Go prelungit și să *recircule* ; sau să devină *celule T efectoare*, care prin secreția lor de *limfokine* sau *anticorpi* (substanțe umorale specifice cu rază de acțiune scurtă, responsabile de inducerea imunității mediată celular) să intervină în reacțiile de respingere a alogrefelor, reacții de hipersensibilitate întîrziată sau reacții grefă-contra-gazdă. Tot în această categorie se descriu și limfocite citotoxice („killer"), care sînt capabile să inducă liza celulelor purtătoare de antigeni specifici prin contact direct celulă-celulă, fără medierea anticorpilor (21). Aceste procese se realizează după o prealabilă transformare blastică, prin care se produce multiplicarea și expansiunea clonală a celulelor efectoare (21, 44). Tot în linia limfocitelor T se admite că se generează și clone de celule *supresoare*, care au rol de a frîna activitatea limfocitelor B și a limfocitelor T efectoare.

Evoluția limfocitelor B. Maturarea limfocitelor B din celulele progenitoare în stadiul de diferențiere *independent de antigen* s-ar realiza după Cooper și Lawton (citat de 3) în următoarele etape :

1. Conversiunea progenitorilor în celule limfoide care produc cantități mici de IgM ;

2. Conversiunea unora din aceste celule producătoare de IgM în celule producătoare de IgG ;

3. Conversiunea unora din celulele producătoare de IgG în celule producătoare de IgA. Anticorpii formați sînt încorporați în membrana celulară și formează markerii celulelor B. Al doilea stadiu de maturație al limfocitelor B are loc în organele limfoide periferice (splină, limfoganglioni) și este *dependent de antigen*. Acest stadiu implică și pentru limfocitele B recunoașterea și legarea antigenelor de receptorii specifici imunoglobulinici ai acestor celule, modulația (transformarea blastică) și multiplicarea (32) cu transformarea în plasmocite sintetizante de anticorpi umorali și în limfocite sensibilizate specific, care devin *celule cu memorie* (37). Schema de maturare descrisă evidențiază și în cazul celulelor B o heterogenitate funcțională, în ce privește limitarea la unele clase de imunoglobuline, care poate fi comparată cu heterogenitatea subpopulațiilor celulare din linia limfocitelor T.

Celule „null". În ultimii ani s-a arătat că alături de limfocitele T și B există o a treia populație celulară limfoidă, care este înzestrată cu *proprietăți citotoxice*. Aceste celule nu au nici un marker de membrană propriu celor două linii principale (de unde și numele de celule „null"): nu au antigen theta, nu sînt afectate de timectomia neonatală și nu se găsesc în timus, deci nu aparțin liniei celulelor T. De asemenea, nu au receptori de membrană imunoglobulinici sau de C_3, caracteristici limfocitelor B. Se găsesc mai ales în m.o. și splină, de aceea s-a sugerat că ar fi limfocite B imature (71). Deși nu sînt mono-

cite, ele au un receptor de membrană Fc ca și monocitele. Aceste celule sînt capabile *să distrugă celulele țintă învelite cu anticorpi specifici*, fixîndu-le prin receptorii lor pentru fragmentul Fc al imunoglobulinelor; din acest motiv au fost numite și celule K („killer" =ucigaș). Chestiunea apartenenței la o linie definită a unei celule sărace în markeri rămîne nerezolvată, deoarece, precum am menționat, aceștia apar progresiv în cursul maturației celulare. Capacitatea citotoxică a acestor celule presupune totuși o anumită maturație și deci sugerează existența posibilă a unei a treia linii celulare limfoide (3, 21).

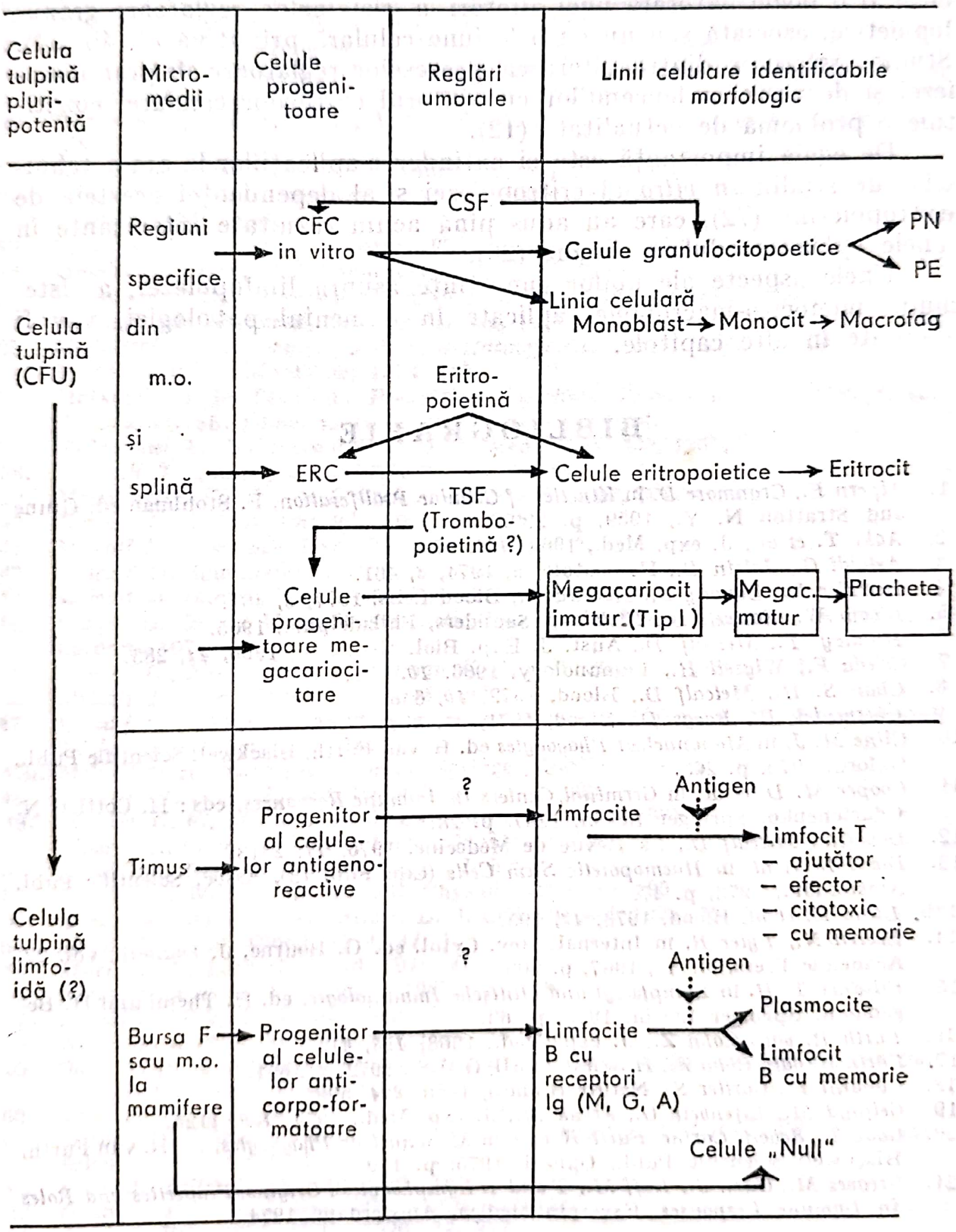
Descoperirea continuă de noi subpopulații limfoide, toate cu activități importante pentru menținerea homeostaziei în procesele imunitare, demonstrează că din noțiunile actuale asupra compartimentului limfoid al sistemului hematopoietic nu se pot defini cu siguranță toate formele de diferențiere a acestei (sau acestor) linii celulare din celula tulpină pluripotentă.

Aplicarea în patologia hematologică umană a cunoștințelor cîștigate prin acest vast material experimental a adus progrese clinice importante atît în diagnostic cît și în prognostic și terapeutică. Vom menționa în acest sens numai *importanța culturilor de m.o. în studiul patologiei eritro- și granulopoiezei*. Dao și Metcalf (12) citează numeroasele cercetări care evidențiază valoarea culturilor de m.o. în diagnosticarea fiziopatologică a neutropeniilor, anemiilor refractare, aplaziilor medulare, în care cercetarea caracterelor de cultură (numărul de colonii, dependența de CSF exogen, activitatea inhibitorilor, efectul eritropoietinei) au permis precizarea condițiilor morbide și în unele situații prognosticul. Numeroase cercetări s-au axat de asemenea pe studiul caracterelor în culturi ale celulelor din leucemiile granulocitare acute și cronice. Astfel, în leucemia acută mieloblastică (LAM) s-a constatat că celulele m.o. nu formează colonii *in vitro* ci numai „clusters", iar mărimea acestora poate constitui un test prognostic al răspunsului la tratament (54, 70). Autorii, studiind 127 și respectiv 44 bolnavi cu LAM netratată și urmărind ulterior evoluția acestora sub același tratament, au constatat că bolnavii ai căror celule medulare nu s-au dezvoltat în culturi sau au crescut numai sub formă de „clusters" mici, de 3—20 celule, au realizat o remisiune completă în procente de 52% și respectiv 77%, comparativ cu 10% la cei care au prezentat o creștere mai mare a „ciorchinilor" („clusters") (de 20—40 celule). Rezultatele sînt concordante cu alte cercetări care au arătat la bolnavi cu LAM o creștere a activității CSF seric și dimpotrivă o scădere a inhibitorilor CSF (46). În leucemia granulocitară cronică se obține o creștere abundentă a coloniilor *in vitro* a celulelor medulare, indicînd o creștere marcată a numărului de CFC din m.o. (47b). S-a constatat de asemenea că fracțiunea CFC în ciclu celular activ se menține la valorile nor-

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL II

Modalități de diferențiere în complexul hematopoietic limfo-mieloid



male, cu tot numărul mare de leucocite din sîngele periferic, fapt care exprimă de asemenea un deficit de substanţă inhibitoare (4). Aceste rezultate sugerează ipoteza că leucemia nu este o neoplazie autonomă, ci ar fi o boală datorată unei alterări a sistemelor reglatoare granulopoietice, asociată sau nu cu o leziune celulară primitivă (4, 46, 54). Studiul relaţiilor dintre alterarea proceselor reglatoare ale granulopoiezei şi dezvoltarea leucemiilor cu ajutorul culturilor celulare constituie o problemă de actualitate (12).

De egală importanţă este şi extinderea aplicaţiilor la om a tehnicilor de studiu *in vitro* al eritropoiezei şi al dependenţei acesteia de eritropoietină (72), care au adus pînă acum rezultate interesante în unele aplazii medulare umane (26).

Unele aspecte ale noilor cunoştinţe asupra limfopoiezei, a sistemului monocito-macrofagic, aplicate în domeniul patologiei, vor fi abordate în alte capitole.

BIBLIOGRAFIE

1. *Alpern E., Cranmore D.* în *Kinetics of Cellular Proliferation,* F. Stohlman ed. Grune and Stratton N. Y., 1959, p. 290.
2. *Aoki T. et al.,* J. exp. Med., 1969, *130,* 979.
3. *Astaldi G., Jalcin B.,* Haematologia, 1974, *8,* 461.
4. *Bérthier R., Donady F., Hollard D.,* Blood Cells, 1977, *3,* 461.
5. *Bloom W., Fawcett D., Histology,* Saunders, Philadelphia, 1965.
6. *Bradley T., Metcalf D.,* Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci., 1966, *44,* 283.
7. *Celeda F., Wigzell H.,* Immunology, 1966, *10,* 231.
8. *Chan S. H., Metcalf D.,* Blood, 1972, *40,* 646.
9. *Chervenick P., Boggs D.,* Blood, 1971, *37,* 568.
10. *Cline M. J.* în *Mononuclear Phagocytes* ed. R. van Furth, Blackwell Scientific Publ., Oxford, 1975, p. 263.
11. *Cooper M. D. et al.* în *Germinal Centers in Immune Responses,* eds: H. Cottier, N. Odartchenko, Springer Berlin, 1967, p. 28.
12. *Dao Ch., Metcalf D.,* La Revue de Médecine, 1976, *17,* 2313.
13. *Dicke K. et al.* în *Haemopoietic Stem Cells* (Ciba Fdn. 13), Assoc. Scientific Publ. Amsterdam, 1973, p. 47.

13b. *Dicke K. et al.* Blood, 1973, *42,* 195.

14. *Everett N., Tyler R.* în Internat. Rev. Cytol. ed. G. Bourne, J. Danielli, vol. 22. Academic Press, N. Y., 1967, p. 205.
15. *Fliedner T. H.* în *Lymphozyt und klinische Immunologie,* ed. H. Theml und H. Begemann. Springer Berlin, 1975, p. 63.
16. *Furth R. van, Cohn Z.,* J. exp. Med., 1968, *128,* 415.
17. *Furth R. van, Cohn Z., Hirsch J.,* Bull. O.M.S., 1972, *47,* 651.
18. *Gandini E., Gartler S.,* Nature (Lond.), 1969, *224,* 599.
19. *Gelfand M., Elfenbein G., Frank M.,* J. exp. Med., 1974, *139,* 1125.
20. *Goud T., Schotte Corine, Furth R. van,* în *Mononuclear Phagocytes,* ed. R. van Furth, Blackwell Scientific Publ., Oxford, 1975, p. 189.
21. *Greaves M., Owen J., Raff M., T and B Lymphocytes: Origins, Properties and Roles in Immune Responses.* Excerpta Medica, Amsterdam, 1974.

Scanned with OKEN Scanner

22. *Gregory S., Fried W.*, Blood, 1971, *37*, 196.
23. *Harker L.*, J. Clin. Invest., 1968, *47*, 458.
24. *Haskill Y., Moore M.*, Nature, 1970, *226*, 853.
25. *Haskill Y., McNeil T., Moore M.*, J. Cell. Physiol., 1970, *75*, 167.
26. *Hideaki Mizoguchi et al.*, Blood, 1971, *37*, 624.
27. *Iscove N., Till J., McCulloch E.*, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1970, *134*, 33.
28. *Jackson C. W.* în *Platelets: Production, Function, Transfusion and Storage*, eds. M. Baldini, Sh. Ebbe. Grune and Stratton, N. Y., 1974, p. 33.
29. *Kennedy Y., Siminovitch L., McCulloch E.*, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1965, *120*, 868.
30. *Kincade P., Cooper M. D.*, J. Immunol., 1971, *106*, 371.
31. *Kubanek et al.* în *Haemopoietic Stem Cells* (Ciba Fnd 13), Assoc. Scient. Publ., Amsterdam, 1973, 243.
32. *Lukes R. J., Collins R.*, Cancer, 1974, *34* (suppl. 4), 1488.
33. *Mandel T., Russel P.*, Immunology, 1971, *21*, 659.
34. *Maximow A.* Bindgewebe und Blutbildendegewebe în *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen*, Springer, Berlin, 1927, 232—584.
35. *McCulloch E., Gregory C., Till J.*, în *Haemopoietic Stem Cells* (Ciba Fdn 13) Assoc. Scient. Publ., Amsterdam, 1973, 183.
36. *McDonald T.* în *Platelets: Production, Function, Transfusion and Storage*, eds. M. Baldini, Sh. Ebbe. Grune Stratton, N.—Y., 1974, 81.
37. *McMichael A., Williamson R. J.*, Exp. Med., 1974, *139*, 1361.
38. *McNeill T.* Immunology, 1970, *18*, 39, 49, 61.
39. *Messner H., Till Y., McCulloch E.* Blood, 1973, *42*, 701.
40. *Metcalf D.* J. Cell. Physiol., 1971, *77*, 277.
41. *Metcalf D.* Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1972, *139*, 511.
42. *Metcalf D.* Immunology, 1971, *20*, 729.
43. *Metcalf D.* Immunology, 1972, *21*, 427.
44. *Metcalf D., Moore M. A. Haemopoietic Cells*, North. Holland publ. Company, Amsterdam, 1971.
45. *Metcalf D., Moore M. A., Shortman K.* J. Cell. Physiol., 1971, *78*, 441.
46. *Metcalf D. et al.* Blood, 1971, *38*, 143.
47. *Metcalf D., Moore M. A.* în *Haemopoietic Stem Cells* (Ciba Fdn 13) Assoc. Scient. Publ., Amsterdam, 1973, 157.
47b. *Metcalf D. Haemopoietic Colonies*, Springer, Berlin—New York, 1977.
48. *Micklen H. et al.* J. Cell. Physiol., 1972, *79*, 293.
49. *Mitchell G. F., Miller J. F.* J. Exp. Med., 1968, *128*, 821.
50. *Moore M., Owen J.* Nature, 1965, *208*, 956 şi 989.
51. *Moore M., Owen J.* Lancet, 1967, *II*, 658.
52. *Moore M., Williams N. J.* Cell. Physiol., 1972, *80*, 195.
53. *Moore M., Williams N., Metcalf D.* J. Cell. Physiol, 1972, *79*, 283.
54. *Moore M. et al.* Blood, 1974, *44*, 1.
55. *Murphy M., Lord B.* Blood, 1973, *42*, 81.
56. *Nossal G. et al.* J. Exp. Med., 1968, *128*, 839.
57. *Nossal G., Pike B.* Immunology, 1973, *25*, 33.
58. *Nowel P. et al.* J. Cell. Physiol, 1970, *75*, 151.
59. *Odell T. jr.* în *Platelets: Production, Function, Transfusion and Storage*, eds Baldini M, Sh. Ebbe. Grune Stratton, N.—Y. 1974, 11.
60. *Odell T. Jr. et al.* Brit. J. Haematol., 1969, *17*, 91.
61. *Osmond D., Miller S., Yoshida Y.* în *Haemopoietic Stem Cells* (Ciba Fdn 13) Assoc. Scient. Publ., Amsterdam, 1973, 131.
62. *Owen J., Ritter M.* J. Exp. Med., 1969, *129*, 431.
63. *Owen J., Raff M.* J. Exp. Med., 1970, *132*, 1216.
64. *Paul J.* Brit. med. Bull., 1976, *32*, 277.

Scanned with OKEN Scanner

UNELE PROBLEME ACTUALE ALE IMUNOLOGIEI SISTEMULUI LIMFOID

În ultimele trei lustre s-au produs progrese remarcabile în studiul histogenezei, fiziologiei și patologiei aparatului limfoid, care au schimbat fundamental concepțiile tradiționale asupra acestui important sistem de apărare a organismului.

Utilizarea criteriului funcțional, imunologic, a pus într-o lumină cu totul nouă afecțiunile limfoproliferative, ajungîndu-se la noi sugestii privind nomenclatura, clasificarea și tratamentul lor. De asemenea s-a ajuns la izolarea de entități clinice noi, precum limfadenopatia angioimunoblastică și formele ei precursoare.

Astăzi sistemul limfoid și maladiile sale nu mai sînt văzute sub aspectul momentan al unor ansambluri de celule mortificate, interpretate histopatologic, ci s-a trecut la o *viziune cu proiecție cvadridimensională, temporospațială*, în care se desfășoară fenomene imunobiologice complexe, avînd drept element central limfocitul.

Deși cîștigul terapeutic al noilor concepții imunologice este încă relativ modest, există suficiente premise teoretice și faptice care să ne facă să întrevedem că progrese decisive se vor poduce nu peste mult timp și în acest sens.

În cele ce urmează vom aborda următoarele aspecte ale imunopatologiei sistemului limfoid :

— noile clasificări imunologice ale limfoamelor maligne nehodgkiniene ;

— o nouă entitate nosologică limfoproliferativă : limfadenopatia angioimunoblastică ;

— aspecte ale limfoproliferărilor la bătrîni ;

— aspecte imunologice în boala Hodgkin.

Scanned with OKEN Scanner

Nomenclatura și clasificarea actuală a limfoamelor maligne nehodgkiniene

de Georgo Popa

Clasificaţia tradiţională a limfoamelor maligne* (hematosarcoame după nomenclatura franceză) a fost pînă de curînd bazată pe următoarele criterii şi raţionamente.

Clasic, se concepea că ţesutul limfoid posedă două ordine de populaţii celulare : celula reticulară şi celula limfoidă, ultima derivînd din prima, considerată celulă tulpină. De aici o primă mare diviziune a sarcoamelor : reticulosarcoame (RS) şi limfosarcoame (LS). La rîndul lor, în cadrul RS se distingeau, după şcoli şi autori, diverse forme histologice între care sarcomul *histiocitar* şi *histioblastic*.

De asemenea, conform concepţiei clasice asupra liniei limfoide, care admitea că din celula reticulară derivă ca un element de diferenţiere şi maturare *limfoblastul*, din acesta derivînd la rîndul său *limfocitul*, — în cadrul limfosarcoamelor se deosebeau două forme : *sarcomul limfoblastic* şi *sarcomul „limfocitar"* (denumit de unii autori şi „LS cu celule mici"). Cînd tabloul celular era mixt, se vorbea de *limforeticulosarcom* (tabelul III).

Această concepţie a fost profund buleversată de recentele achiziţii ale imunobiologiei limfocitului, care au modificat radical viziunea asupra patologiei afecţiunilor limfoproliferative.

În cele ce urmează vom aminti foarte succint numai acele noţiuni strict necesare pentru a explica cele mai recente clasificaţii ale limfoamelor maligne şi unele probleme practice ale imunopatologiei celulei limfoide.

1. Clasic, celula „reticulară" constituia un termen foarte elastic, atotcuprinzător şi omnipotent, ea fiind considerată celula tulpină din care derivă toate seriile hemopoietice, linia histiomonocitară şi celulele de susţinere.

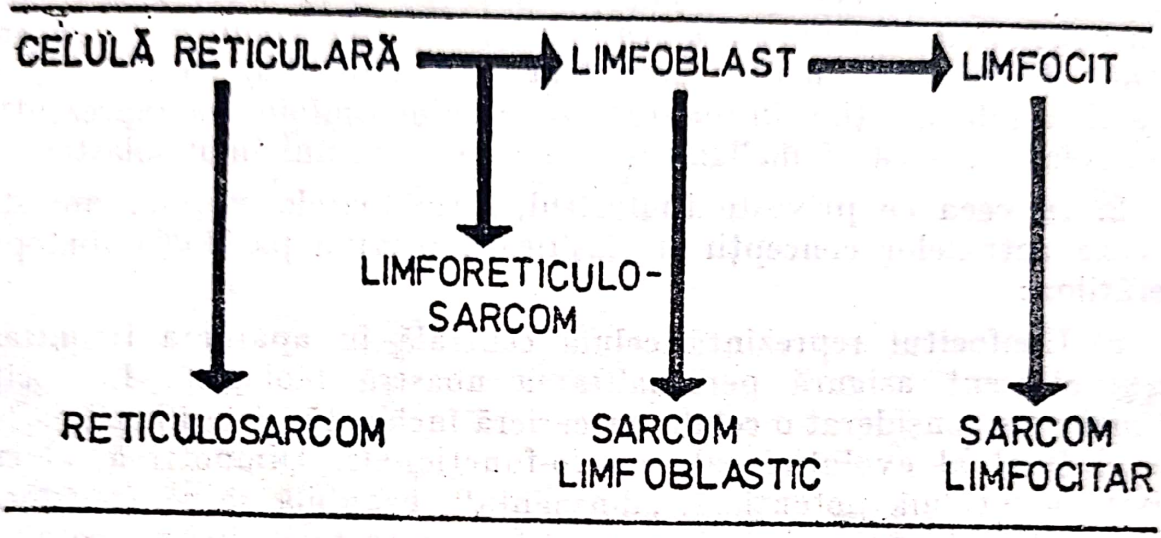
---

*) Termenul de limfom malign, aparţinînd autorilor anglosaxoni, nu este prea adecvat, deoarece aici sînt clasate nu numai limfoproliferări, dar şi tumori histiomonocitare. Poate că termenul de hematosarcom este mai potrivit, dar cel de limfom malign s-a impus pe plan internaţional, astfel încît nu ni se pare util a complica cu ambiţii semantice un domeniu şi aşa suficient de complicat şi nu rareori confuz.

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL III

Concepţia clasică în clasificarea Limfoamelor maligne (LM)



Actualmente s-a produs însă o defetişizare cvasicompletă a acestei celule, fiindu-i retrase pe rînd toate sau aproape toate prerogativele ; astfel : (6, 7, 10, 20)

— celula reticulară nu mai este astăzi considerată celula tulpină hemoformatoare omnipotentă;

— celula reticulară nu mai este considerată a fi la originea celulelor macrofage histiomonocitare, care, după concepţia actuală, intră în vastul domeniu al *sistemului fagocitelor mononucleare* ; histiocitul nu este altceva decît monocitul fixat în ţesuturi şi care se naşte în măduva osoasă dintr-un precursor comun cu granulocitul neutrofil, fapt ce apare logic, dată fiind funcţia comună de fagocitoză ; histiomonocitele pot fi fixe sau libere în ţesuturile limfoide. Nu au nici un raport cu celulele endoteliale. Citoplasma lor nu apare bazofilă la Giemsa şi nu este nici pironinofilă. Ea conţine lizozomi bogaţi şi hidrolaze (6) ;

— celulei reticulare i se neagă astăzi, de asemenea, rolul în geneza celulelor de susţinere (fibroblaşti etc.). Formarea fibrelor de reticulină, atribuită tradiţional exclusiv celulelor reticulare poate fi găsită şi în tumori de origine limfoidă (de ex. sarcomul plasmocitar, după Taylor).

Pentru extremiştii (precum Diebold) acestei concepţii de detronare completă a celulei reticulare pînă la desfiinţarea ei ca entitate, ar merita numele de celule reticulare numai celulele *dendritice* din corpusculii Malpighi, foliculii ganglionari şi ai ţesutului limfoid digestiv. Acestea ar avea rol în imunitatea celulară, în sensul de a capta antigenul pe suprafaţa lor şi de a-l prezenta celulei imunocompetente, limfocitul, iniţiind astfel mecanismul răspunsului imunitar.

În aceste condiții, vechiul concept de reticulosarcom (RS) a devenit actualmente lipsit de conținut pentru majoritatea hematologilor, iar cel de sarcom histiocitar nu mai poate fi inclus în sfera RS. Precum vom vedea mai departe, sfera cea mai largă a clasicului RS era constituită de limfomul malign „cu celule reticulare mari bazofile"; or, această celulă aparține în realitate sistemului limfoid, ea reprezentînd imunoblastul, a cărui malignizare duce la sarcomul imunoblastic.

2. În ceea ce privește limfocitul, următoarele noțiuni noi stau la baza actualelor concepții și clasificații privind patologia limfoproliferărilor :

a) Limfocitul reprezintă celula centrală în apărarea imunitară. Acest element asigură personalitatea noastră biologică. Limfocitul nu mai este considerat o celulă cu carieră încheiată, deci ajunsă la termenul final al evoluției sale morfo-funcționale. Dimpotrivă, el este privit ca o celulă potențială, „dormantă", capabilă să se transforme sub un stimul antigenic într-o celulă cu caractere tinere, metabolic activă, avînd dimensiuni mai mari, citoplasmă bazofilă, nucleoli rețea de cromatină fină, — *imunoblastul*. Această *transformare blastică* a fost de mult demonstrată cu ajutorul mitogenilor de tipul fitohemaglutininei.

Astfel stînd lucrurile, elementele limfoide blastice nu mai sînt considerate trepte de maturație ale limfocitului, ci trepte de *modificare morfofuncțională* (întotdeauna ale uneia și aceleiași clone). În felul acesta s-a ajuns la conceptul deosebit de fecund, creat de Lennert, acela de *modulare imunologică*, — provocată de diverși stimuli antigenici. Astfel, aparentul paradox al unui ciclu evolutiv invers al celulei limfoide față de restul celulelor economiei, și anume de la element adult la celulă din ce în ce mai tînără, ca tot atîtea *momente funcționale*, constituie cheia de boltă a teoriilor imunologice actuale. Modularea este diferită pentru cele două sisteme limfoide B și T (fig. 5).

În legătură cu modularea imunologică a limfocitului trebuie de spus următoarele : cu cît într-o limfoproliferare există o mai mare varietate de celule limfoide, în sensul prezenței concomitente de limfocite, „limfoblaști" (celule centrofoliculare), imunoblaști, plasmocite, deci cu cît coeficientul de modulare este mai ridicat, cu atît mai activ este procesul imunologic și de aici cu atît mai benign, mai apropiat de zona proceselor reactive și prin urmare, cu atît mai depărtat de transformarea ireversibilă, neoplazică. Este cazul, precum vom vedea, al limfadenopatiei angioimunoblastice și al formelor ei precursoare (fig. 6).

Invers, omogenizarea proliferării limfoide indică o epuizare a capacității funcționale, imunologice, o „blocare" pe o anumită treaptă

Scanned with OKEN Scanner

a modulării, a transformării blastice (fig. 5). Această „îngheţare" a modulării imunologice corespunde *transformării neoplazice* a procesului limfoproliferativ reactiv, sau acelui „switch on" (derepresie imunologi-

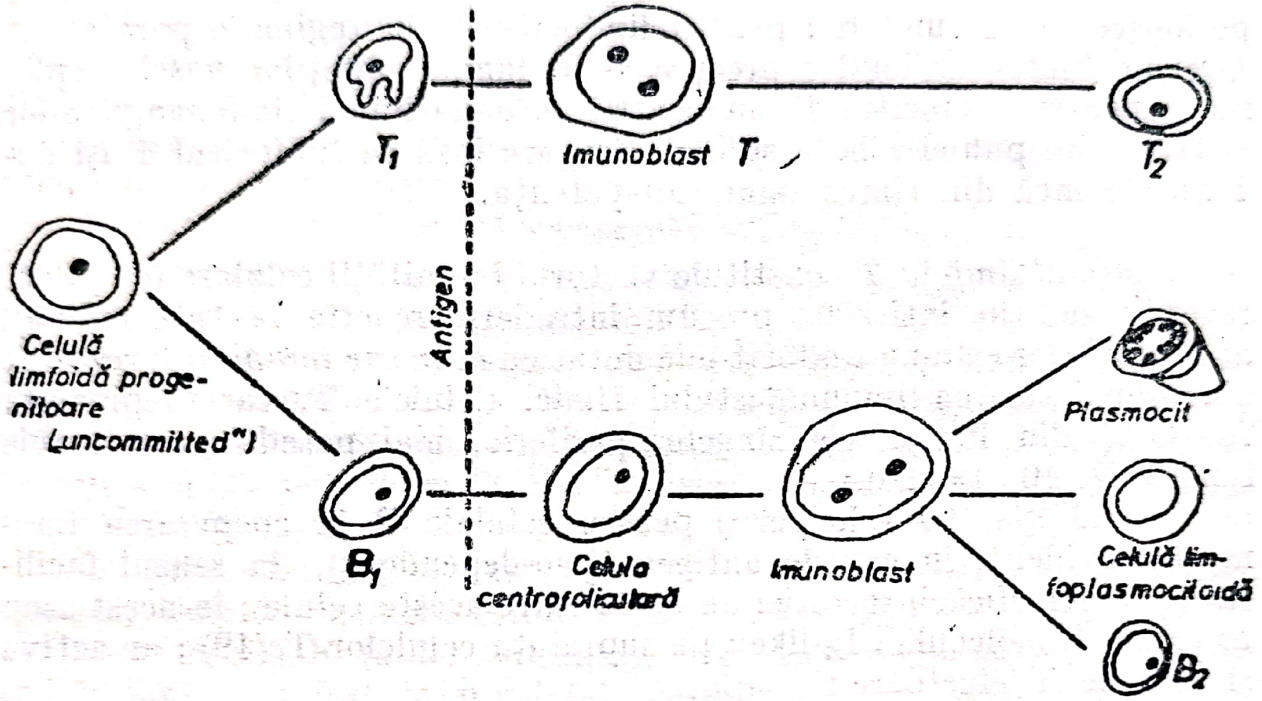


Fig. 5

Fazele ciclului de modulare a celulelor limfoide (după Lennert, modificat)
Celulele limfoide T_1 şi B_1, care nasc dintr-o celulă limfoidă tulpină („uncommitted"), nu sînt funcţionale. După contactul cu un antigen începe ciclul de modulare morfofuncţională în vederea imunocompetenţei.
Celula T_1 evoluează către imunoblastul T, iar acesta va evolua spre limfocitul T_2, celulă cu memorie imunitară.
Celula limfoidă B îşi face modularea în foliculii germinativi ai limfoganglionului sub forma de „centrocit" şi „centroblast" (Lennert) sau celule „centrofoliculare" (Lukes), după care urmează faza de imunoblast, pentru ca în final să evolueze către plasmocit, limfoplasmocit sau limfocitul B_2, dotat cu memorie imunitară.

că), adică acea comutare malignă (denumită şi „escaladare" a reacţiilor imune către neoplazii — Miller şi Osoba, 1967), al cărei resort intim deocamdată ne scapă şi care se află la originea limfoamelor maligne. Este semnificativ faptul că în această fază apar în număr notabil mitozele, indicînd proliferarea tumorală, mitozele găsindu-se foarte rar în procesele limfoide reactive, aflate deci în mişcare modulantă activă.

b) Precum s-a mai menţionat (p. 29—32), metodele imunobiologice actuale împart populaţia limfoidă în două mari grupe, diferenţiate prin markeri de suprafaţă : sistemul T şi B. Ar exista şi un al treilea grup, lipsit de markeri specifici, denumit de Lukes celule U (*undefined*), după alţi autori, celule „null".

Toate elementele limfoide iau naștere dintr-o celulă tulpină comună în măduva osoasă. Evoluția limfopoiezei a fost expusă în primul capitol. Reamintim numai că diferențierea funcțională, sau ceea ce s-a numit „educația imunologică", are loc în organele limfoide periferice sau secundare : pentru limfocitul T în regiunile parafoliculare ale limfoganglionilor precum și în lungul pereților vaselor splenice ; pentru limfocitul B, în centrii germinativi ai limfoganglionilor și la nivelul pulpei albe a splinei. Se pare însă că limfocitul T își dobîndește încă din timus imunocompetența.

Sistemul limfoid T constituie vectorul imunității celulare (de pildă, reacțiile de tip întîrziat, precum intradermoreacția la tuberculină), al cărei *efector* este un limfocit mic dotat cu *memorie imunitară*, rezultat din transformarea imunoblastului timic. Celulele T, care reprezintă 70—80% din limfocitele sîngelui periferic, mai posedă următoarele funcții (2, 10, 19, 20) :

— rol *ajutător* („helper") pentru celulele B în cooperarea imunitară (evident, în caz de antigen timo-dependent), în sensul facilitării și intensificării secreției de Ig de către aceste celule ; în acest scop ar exista o moleculă „Ig-like" pe suprafața celulelor T (19) ; ar activa și celulele T efectoare ;

— control al proliferării (cantitativ) și modulării (calitativ) al celulelor B, în cadrul păstrării echilibrului imun ;

— în același timp au și un rol *imunosupresor*, prin blocarea răspunsului celulei B (inhibarea sintezei și secreției de Ig), fie direct, fie prin inhibarea celulei T ajutătoare ;

— celulele T răspund de reacția de grefă-contra-gazdă și de fenomenul de respingere a grefei ;

— funcție *citotoxică* asupra celulelor țintă, inclusiv tumorile ; în cadrul aceleiași funcții, rol de supraveghere a imunității antineoplazice ; citoliza celulei purtătoare de antigen are loc direct, fără mediația anticorpilor ;

— eliberarea de diverse „limfokine" (ca răspuns la stimularea antigenică) : un „factor de armare" al macrofagelor (sensibilizare specifică) ; un factor de activare a macrofagelor ; un factor de inhibare a migrării macrofagelor ; un factor de stimulare a migrării și activității neutrofilelor și eozinofilelor ; cu ajutorul limfokinelor, limfocitul T formează granulomul inflamator caracteristic hipersensibilității celulare.

Limfocitul B, care reprezintă 20—25% din limfocitele periferice, este suportul imunității umorale, al formării de anticorpi. Celula efectoare este plasmocitul (rezultat din transformarea imunoblastului B), producător al imunoglobulinelor. În acest scop, limfocitul B

Scanned with OKEN Scanner

posedă pe suprafaţa sa receptori de antigen, care au structură de Ig. Anticorpii de suprafaţă se pun în evidenţă prin imunofluorescenţă.

În procesul imun cele două sisteme celulare T şi B cooperează între ele, precum şi cu macrofagul. Acesta din urmă are rolul de a prelucra şi prezenta informaţia antigenică celulei T prin fenomenul de *emperipoleză*, cu ajutorul pseudopodelor dendritice. La rîndul său, celula T, care se transformă în celulă cu memorie, prezintă antigenul tratat sub formă de „superantigen" celulei B. Limfocitul B se transformă în plasmocit, secretînd Ig, adică anticorpi.

Se pare că fiecare celulă va secreta o singură clasă de Ig.

Dar, precum am menţionat, celulele T pot şi suprima formarea de anticorpi. Prin urmare, timusul controlează homeostazia cantitativă şi calitativă a celulelor B, elementul efector al imunităţii umorale, controlează amplitudinea şi durata răspunsului imun. Acest fapt ar trebui, cel puţin teoretic, să permită manevrarea dirijată de către terapeut a aparatului imun în diverse procese patologice, în primul rînd în limfoproliferările de natură imună.

Cît priveşte *celula* U sau „null", discuţia este departe de a fi încheiată. Unii o consideră celulă precursoare a seriei limfoide. Alţii o denumesc celulă K (killer = ucigaş), citotoxică, fiind capabilă să distrugă, fără a fi fost în prealabil sensibilizată, celule-ţintă acoperite de anticorpi specifici, cu care se combină graţie receptorului de fragment Fc, pe care îl posedă.

* * *

În spiritul acestor progrese substanţiale privind imunobiologia sistemului limfoid, au apărut numeroase încercări noi de clasificare a limfoamelor maligne. Această pletoră de clasificaţii, care se disting mai mult sau mai puţin una de alta, creează indubitabil mari confuzii atît pentru histopatolog cît şi pentru clinician. În cele ce urmează ne vom referi mai pe larg la patru clasificaţii actuale principale :

— clasificaţia OMS (Mathé şi Rappaport, 1976), care păstrează raporturi cu unele concepţii tradiţionale ;

— clasificaţiile lui Lukes şi Collins (1974 şi 1978) şi ale lui Lennert şi colab. (1975 şi 1978), considerate „funcţionale" ;

— clasificaţia lui Belpomme şi colab. (1977), în care criteriul imunologic este deosebit de detaliat.

Nu ne vom referi la numeroase alte clasificaţii: Bennett şi colab. (1973), Dorfman (1974), Diebold (1975), Gérard-Marchant (1976), care sînt doar variante inspirate de clasificaţiile lui Lukes-Collins şi Lennert, deci fără puncte de vedere vădit personale.

Scanned with OKEN Scanner

I. Clasificația lui Mathé și Rappaport (1976, OMS)

Poate fi considerată o clasificație epigonă clasicismului. Cei doi autori păstrează denumirea de limfo-și reticulosarcom, sub rezerva impreciziei care grevează termenul de RS. Ei adoptă denumirea de imunoblast, dar fac rezerva că proprietățile tinctoriale ale acestor celule, — pironinofilia, — nu constituie o dovadă formală în favoarea funcției lor imunologice ci indică doar că aceste celule conțin o cantitate mare de ARN citoplasmatic.

Mathé și Rappaport disting (tabelul 4) :

A) LIMFOSARCOAME (LS)

1. *LS nodular*, conține celule B centrofoliculare. Poate evolua către forma difuză și poate de asemenea leucemiza. Celulele limfoide care-l alcătuiesc au volum variabil, iar nucleul este deseori ancoșat. Tipul celular este cel mai frecvent „prolimfocitar", mult mai rar prolimfocitar-limfoblastic.

2. *LS difuz*, comportă 6 forme :

a) *limfocitară* : conține limfocite, fiind vorba în general de o leucemie limfatică cronică ;

b) *limfoplasmocitară* : conține limfocite și plasmocite, fiind vorba de obicei de o afecțiune imunologică : macroglobulinemie primară (IgM) sau gamopatie monoclonală (IgG, IgA, lanțuri grele) ;

c) *prolimfocitară* : comportă elemente avînd caractere intermediare între cele ale limfocitelor și limfoblaștilor ; pot avea nuclei ancoșați și nucleoli ; talia celulelor ar permite distingerea de subtipuri *mici*, *mari* și *mixte* ;

d) *limfoblastică*, alcătuită din limfoblești mari și microlimfoblaști ; celulele acestui sarcom au deseori nuclei conturnați ; aparținînd sistemului T, acest sarcom corespunde leucosarcomatozei Sternberg.

Celulele limfosarcoamelor difuze pot fi cu markeri B ori T, sau fără nici un marker decelabil. Formele limfocitare și prolimfocitare sînt mai ales de origine B;

e) *sarcomul imunoblastic* : conține celule mari, pironinofile, corespunzînd imunoblastului. Macrofagele sînt rare, spre deosebire de tumora Burkitt. Celulele pot fi de tip B sau T sau pot să nu posede markeri decelabili. Tipul B se recunoaște după nuanța plasmocitoidă a imunoblaștilor. După Mathé și Rappaport, ceea ce diferențiază LS imunoblastic de RS este raritatea fibrelor de reticulină argirofile;

f) *Tumora Burkitt* se prezintă cu celule limfoide de tip B, pironinofile (imunoblești?) cu incluziuni sudanofile, la care se adaugă un mare număr de macrofage diseminate printre celulele tumorale, realizînd aspectul de „cer înstelat", dar care nu este patognomonic pentru

acest tip de limfom. Celulele neoplazice sînt de dimensiuni mai reduse decît cele ale sarcomului imunoblastic. Pentru diagnosticul diferențial un element important îl constituie prezența antigenului nuclear al virusului Epstein-Barr. În 1978 (11b) Mathé consideră că T. Burkitt are 3 ordine de celule : prolimfocite, Lb și imunoblaști.

LS pot invada măduva osoasă în mod difuz. De asemenea, celulele LS pot trece în sîngele periferic, fie după cîteva luni de evoluție (LS leucemic precoce), fie după mai mulți ani (LS leucemic tardiv).

B) MYCOSIS FUNGOIDES

Tumoră limfoidă, avînd origine în dermul superior și comportînd un infiltrat celular polimorf, probabil cu elemente de tip T. În 2/3 din cazuri se produc metastaze limfoganglionare.

C) PLASMOCITOMUL

D) RETICULOSARCOMUL (RS)

Mathé și Rappaport mențin acest termen pentru neoplaziile limfoide conținînd „celule mari de origine nesigură, care, atunci cînd produc fibre argirofile sau/și sînt fagocitante, au fost interpretate drept celule reticulare neoplazice, histiocite sau alte fagocite mononucleate". Această ambiguitate ar explica după cei doi autori diversitatea formelor celulare și nucleare ale RS. Limitele celulare sînt nete, ele putînd fi accentuate de fibrile argirofile intercelulare care adesea înconjoară complet celulele. Citoplasma este palidă, de obicei largă, nucleii ovali sau ancoșați. Leucemizarea are loc numai excepțional. Natura histiocitară a elementelor poate fi sugerată de secreția de lizozim sau prezența unei esteraze nespecifice inhibată de fluoruri. Față de celulele LS imunoblastic, elementele RS sînt mai mari și mai puțin bazofile.

E) HEMATOSARCOAME NECLASATE

Autorii includ aici limfoame maligne cu celule limfoide sau histiocitare, care nu pot fi clasate histologic și citologic.

Modernizarea în 1978 a clasificației lui Mathé (13b și 12c). În 1978 Mathé revizuește clasificarea OMS a limfosarcoamelor (tabelul V), plecînd de la o nouă concepție a diferențierii limfoide (tabelul VI), potrivit căreia limfoblastul nu mai este privit ca o celulă intermediară a modulării funcționale, imunologice, precedînd imunoblastul ca în clasificația OMS, ci devine o celulă precursoare, de maturare, situată între celula tulpină și limfocitul nesensibilizat, nedeterminat imunologic. Pe de altă parte, prolimfocitul ocupă actualmente două poziții : precursor de maturație al limfocitului nesensibilizat și celulă de modulare intermediară între imunoblast și limfocitul cu memorie.

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL IV

Clasificația LM nehodgkiniene după Mathé și Rappaport (OMS, 1976)

Histologic	Citologic	Imunologic
A. Limfosarcoame 1. LS nodulare	a) Prolimfocitar b) Limfoblastic c) Mixt	B
2. LS difuze	a) Limfocitar b) Limfoplasmocitar (de obicei boala Waldenström) c) Prolimfocitar d) Limfoblastic (cu nuclei conturnați) e) Imunoblastic f) Tumora Burkitt	B B B sau T B sau T B sau T T
B. Mycosis fungoides		T?
C. Plasmocitom		B
D. Reticulosarcom	Celule reticulare (sau „histiocite în sens larg")	Macrofage
E. Hematosarcoame	Neclasate	

TABELUL V

Cadrul modern al LS în sens larg (Mathé, 1978)

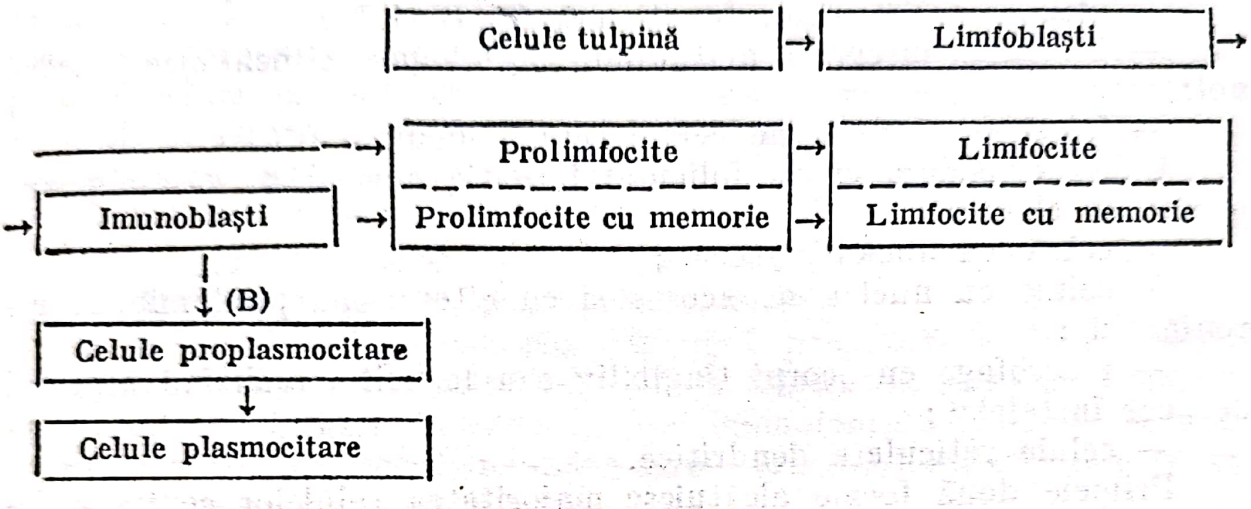
Tipuri microscopice		Markeri
LS plasmocitar		B
LS limfoplasmocitar		B
LS limfocitar		B
LS prolimfocitar (centrofolicular)	Nodular	B
	Difuz	T
Mycosis fungoides		T
LS limfoblastic	Convolut	T sau null
	Neconvolut	B
LS Burkitt		B
LS imunoblastic		T

Observații. „Nu există nici o rațiune de a schimba clasificația histologică clasică a hematosarcoamelor în limfosarcoame și reticulosarcoame", afirmau Mathé și Rappaport în 1975. Și totuși, clasificația lor este departe de a fi acceptată de majoritatea hematologilor. Și aceasta în primul rînd din cauza menținerii noțiunii de reticulosarcom bazată pe un concept confuz de celulă reticulară. Recent (13b), Mathé restrînge termenul de RS pentru „tumorile fagocitelor mononucleate convenționale". De asemenea, este singura clasificație care introduce termenul de LS prolimfocitar. Or, dubla semnificație acordată de Mathé

Scanned with OKEN Scanner

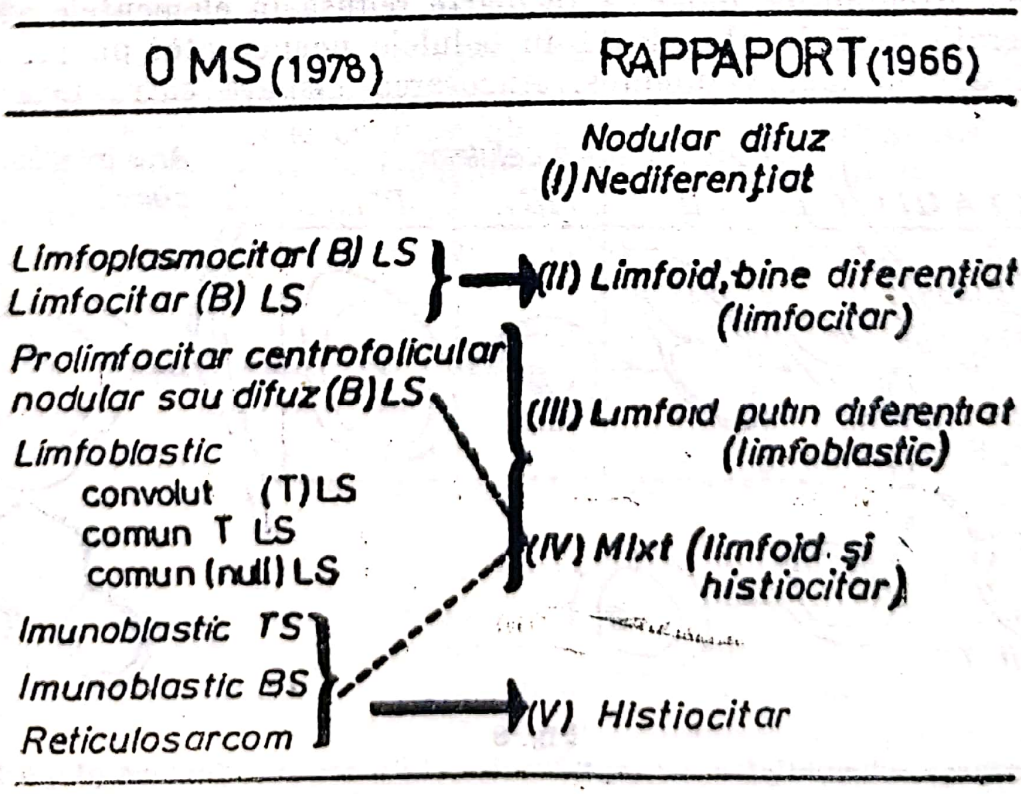
TABELUL VI

Diferenţierea limfoidă, după Mathé (13b)



conceptului de prolimfocit (13b), nu este menită să simplifice lucrurile. În tabelul VI bis este redată comparaţia între clasificaţia OMS şi clasificaţia lui Rappaport (1966).

TABELUL VI bis



II. Clasificația lui Lukes și Collins (1974) (12)

Lukes, cel dintîi care introduce conceptul funcțional, imunologic, în clasificarea LM, se bazează pe următoarele criterii și premise :

— utilizarea sistemelor funcționale T, B și U ;

— utilizarea integrată a studiilor morfologice, citochimice și imunologice ;

— folosirea noțiunii de celule centrofoliculare (CCF).

Lukes consideră că în foliculul limfatic normal se găsesc patru ordine de elemente :

— celule cu nucleu ancoșat ;

— celule cu nucleu neancoșat și cu citoplasmă predominant pironinofilă ;

— macrofage cu „corpi tingibili" sau fagocite, realizînd aspectul de „cer înstelat" ;

— celule reticulare dendritice.

Primele două forme alcătuiesc majoritatea celulelor centrilor foliculari, unde, după Lukes, are loc *modularea*, transformarea blastică a celulelor B, adică a limfocitului nesensibilizat. Acesta, consecutiv prezentării antigenului de către celulele dendritice perifoliculare care-l poartă, după Nosal și colab., pe suprafață, trece prin două etape cu nuclei ancoșați, după care urmează alte două etape cu nuclei neancoșați (fig. 8).

Celulele ancoșate și neancoșate variază mult ca mărime, au citoplasmă pironinofilă, dar ea este foarte redusă în elementele ancoșate și moderată pînă la abundență în celulele neancoșate, pe măsură ce nucleul devine mai voluminos. Ancoșarea dispare către faza finală

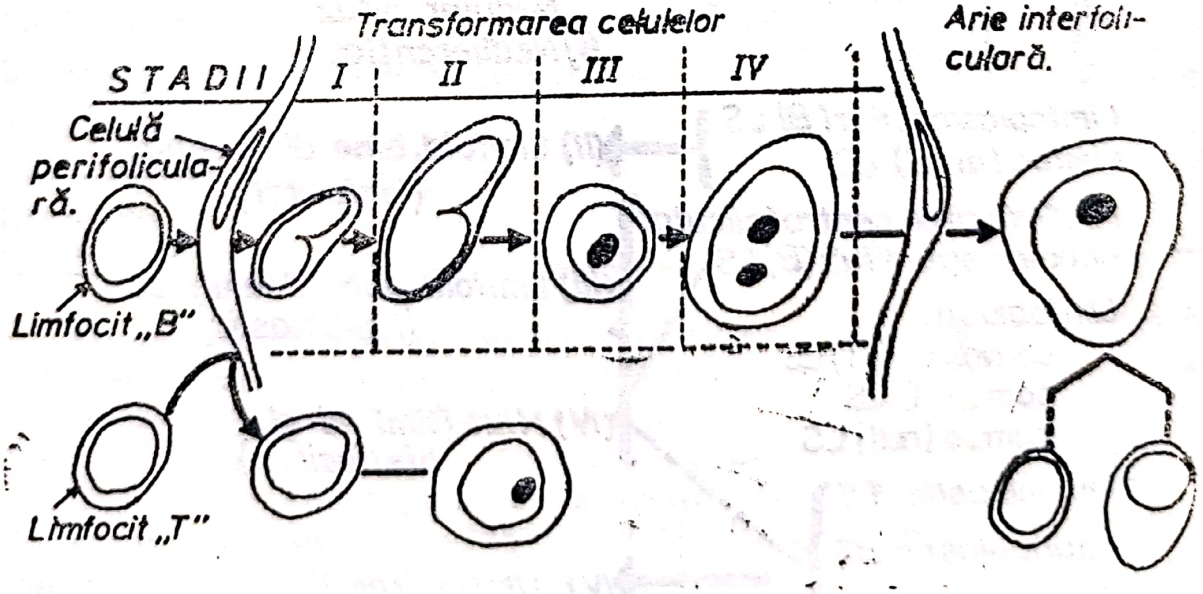


Fig. 8
Reprezentarea schematică a conceptului de celulă centrofoliculară (după Lukes)

a transformării intrafoliculare, nucleul devine rotund sau ovalar și apar nucleolii, în timp ce citoplasma pironinofilă devine tot mai largă. Celula finală va fi dimensional de patru sau mai multe ori superioară limfocitului mic de origine. Doi nucleoli sînt așezați pe membrana nucleară în axa mică a nucleului. Celula neancoșată posedă un metabolism foarte activ și constituie forma celulară a centrului folicular, care se divide, pe cînd celula ancoșată este forma care nu se divide. Prima continuă să prolifereze ca imunoblast și formează plasmocite sau se întoarce spre starea „dormantă", ca limfocit mic, dacă stimulul diminuă (12).

Lukes și Collins clasifică LM astfel:

A) LIMFOAME CU CELULE T în care includ:

1. *Mycosis fungoides* și *sindromul Sézary.*

2. *Boala Hodgkin*, expresia biologică probabilă a luptei dintre gazdă, reprezentată de celula T, și celulele Sternberg, elemente tumorale rezultate după Lukes, din transformarea imunologică a celulelor limfoide în imunoblaști poliploizi, fenomen care — la scară mult mai redusă, are loc și în mononucleoza infecțioasă.

3. *Leucemia limfoidă acută* cu celule „convolute", care apare la tineri, se însoțește de adenomegalie monstruoasă și în care măduva osoasă nu este invadată inițial, dar ulterior este infiltrată masiv; corespunde leucosarcomatozei Sternberg; totuși apartenența la sistemul T al acestei leucoze nu este absolut certă nici pentru Lukes.

B) LIMFOAME CU CELULE B. Cuprind:

1. *Limfoamele precursorilor plasmocitelor*, — sistemul care produce Ig, — și anume celulele centrofoliculare.

2. *Limfoamele asociate cu producere anormală de imunoglobuline.*

Lukes și Collins consideră că majoritatea LM umane, difuze sau nodulare, conțin tipurile celulare ale centrului folicular și prin urmare reprezintă diverse stări de transformare a celulei B, fie în sensul unei blocări, fie în sensul unei mutații oncogene („switch on") în cursul transformării. Astfel, blocajul la nivelul celulei reticulare dendritice ar duce la LLC, caracterizată prin absența de structură nodulară (incapacitatea de a forma foliculi) precum și prin hipo-sau agamaglobulinemie, datorită lipsei plasmocitelor.

Blocajul în stadiul următor, — celule ancoșate mici, — duce la LM de obicei nodulare, aici încadrîndu-se majoritatea LM foliculare.

Blocajul la stadiul de celule ancoșate mari duce la LM parțial foliculare, dar de obicei difuze și cu un grad mai accentuat de agresivitate.

Limfoamele cu celule mici neancoșate cuprind două variante: limfomul Burkitt, alcătuit uniform din elemente mici neancoșate și o variantă cu celule mici neancoșate de diverse mărimi.

Blocajul în stadiul celulelor neancoșate mari apare mai ales la subiecți peste 50 de ani, este de obicei monomorf, dar poate cuprinde și celule ancoșate reziduale. Se poate însoți de hiperimunoglobulinemie

Scanned with OKEN Scanner

monoclonală şi este strîns corelat cu sarcomul imunoblastic de care nu poate fi precis diferenţiat.

Sarcomul imunoblastic se dezvoltă brusc pe fondul unor perturbări imunologice de lungă durată, consecutiv unor stimulări antigenice cronice. Lukes admite şi posibilitatea existenţei sarcomului imunoblastic de tip T, fără ca aceasta să fi fost demonstrată suficient.

Sarcomul histiocitar. Lukes şi Collins reconsiderînd aşa zisele RS sau sarcoame histiocitare, ajung la concluzia că ele sînt foarte rare şi că RS de altădată corespunde de cele mai multe ori sarcomului imunoblastic, deci unui limfocit transformat. Ei cred necesară o redefinire a adevăratului sarcom histiocitar, adică a macrofagelor neoplazice. Utilizarea tehnicii diferenţiate a rozetelor şi cercetarea alfa-naftolacetat-esterazei ar permite identificarea histiocitelor ca fagocite.

În 1978, Lukes revizuieşte clasificaţia din 1974 astfel (tabelul VII):

TABELUL VII

Clasificaţia limfoamelor maligne după Lukes (1978, 12b)

Cu celule *U* (undefined cells)
Cu celule *T*
- Limfocit mic
- Limfocit convolut
- Sézary — mycosis fungoides
- Sarcomul imunoblastic cu celule T

Cu celule *B*
- Celule limfoepiteliale
- Limfocit mic
- Limfocit plasmocitoid
- Cu celule centrofoliculare (FCC)
  - Folicular, difuz, folicular şi difuz, şi cu sau fără scleroză
    - ancoşate mici
    - ancoşate mari
    - neancoşate mici (transformate)
    - neancoşate mari (transformate)
- Sarcomul imunoblastic cu celule B
- Leucemia cu celule „păroase" (hairy cell)

Histiocitar

Celule de origine necunoscută
- Boala Hodgkin — originea cel. neoplazice necunoscută

Inclasificabile

Observaţii. Clasificaţia Lukes-Collins a fost cea care a adus cele mai substanţiale date noi în clasificarea LM, dintre care două rămîn bine stabilite:

a) originea centrofoliculară a limfoamelor nodulare (foliculare) şi în general a majorităţii LM;

b) recunoașterea că majoritatea limfoamelor histiocitare (așazisele RS) sînt în realitate alcătuite din celule limfoide.

Limfoblastul nu apare în această clasificație, fiind înlocuit „grosso modo" cu etapa intrafoliculară.

Dar, deși utilizează criterii imunologice, și această clasificație este nevoită să facă apel larg la aspectul morfologic. Corelarea clinică și morfologică este numai parțială. Introducerea unui grup de LM inclasificabile deschide un cîmp destul de întins incertitudinilor. Se observă, de asemenea, din tabelul VII, că în 1978 Lukes nu mai consideră celula Sternberg de origine T, ci de origine necunoscută.

III. Clasificația lui Lennert (Kiel, 1975).

Lennert consideră că „modalitatea optimă pentru a defini specificitatea unei tumori este de a reuni o analiză citohistologică de finețe (Lennert este hematolog devenit ulterior histopatolog) cu demonstrarea unei funcții celulare caracteristică tipului celular implicat" Deci, criteriul morfologic asociat celui funcțional (11).

În spiritul acestei concepții, Lennert utilizează pentru definirea și clasificarea limfoamelor maligne, următoarele criterii :

a) *morfologic* : examenul histopatologic optic și electronoscopic, examenul citologic (Giemsa) atît pe amprente cît și pe secțiuni ;

b) *funcțional* : pentru funcția enzimatică a histiocitelor : esteraza nespecifică și fosfataza ; pentru detectarea sistemului limfocitar B : studiul conținutului în Ig al celulei limfomului respectiv, analiză efectuată la diverse nivele : în extrase de tumori liofilizate ; pe suprafața celulelor izolate, la microscopul optic și electronic, prin tehnica imunoperoxidazei ; pe secțiunile în parafină, ca incluzii PAS pozitive (rezistente la diastaze) în celulele tumorale.

Lennert înlocuiește cele 4 tipuri de celule intrafoliculare ale lui Lukes cu 2 tipuri de celule denumite „centrofoliculare" : astfel, *centrocitul* (germinocitul) corespunde celulelor ancoșate mari sau mici, iar *centroblastul* (germinoblastul) corespunde celulei neancoșate mici sau mari.

Combinînd aceste diverse criterii, Lennert alcătuiește următoarea clasificație (tabelul VIII).

1. LEUCEMIA LIMFATICĂ CRONICĂ (LLC)

(Sinonime : L M limfocitar bine diferențiat).

Predomină limfocitele adulte la care se adaugă întotdeauna limfoblași și prolimfocite, aceștia acumulîndu-se în zone de proliferare, astfel că histologic se găsește o structură pseudofoliculară. Limfocitele sînt complet PAS negative pe secțiunile în parafină. Plasmocitele lipsesc.

Examene imunologice : în 33% din cazurile de LLC, Lennert găsește o creștere a IgM în tumoră pînă la 60 de ori valorile normale ; în ser însă nu a găsit niciodată valori crescute ; în 2 cazuri a fost găsită IgG crescută de 2—3 ori.

2. GERMINOCITOM DIFUZ

(Sinonime : limfosarcom limfoid ; LM limfoid intermediar ; tumoră cu CCF, de tip celule ancoșate mici).

Tumora (care foarte probabil corespunde leucosarcomatozei lui Sternberg din cauza frecventei leucemizări și a tipului celular ancoșat) seamănă mult cu LLC, dar se deosebește prin lipsa centrilor de proliferare comportînd limfoblaști și prolimfociți. Dar tot Lennert recunoaște că acest limfom malign este net distinct de LLC prin aspectul neregulat al celulelor, dimensiunile mai mari decît ale limfocitului, ancoșarea lor, structura cromatiniană fină, prezența uneori de nucleoli mici, citoplasma redusă, slab bazofilă. Descrierea corespunde celulei „leucosarcomatoase" a lui Sternberg. Imunologic, la 7 din 11 cazuri, s-a găsit o ușoară sau moderată creștere a IgM în tumoră. Nici o modificare în ser. Exceptînd un caz, PAS-ul a fost negativ pe secțiuni.

3. GERMINOBLASTOMUL

(Sinonime : limfom folicular, LM nodular, tumoră cu CCF ancoșate și neancoșate).

Tumora comportă „germinoblaști", care sînt mai bazofili decît limfoblaștii. Posedă mai mulți nucleoli, de mărime medie, așezați deseori lîngă membrana nucleară. Se mai găsesc de asemenea „germinociți", macrofage, celule reticulare dendritice. Structura tumorii este de obicei nodulară, dar există și forme difuze sau mixte.

Germinoblastomul se poate transforma finalmente într-o tumoră sarcomatoasă uniformă, „germinoblastosarcom", care, după Lennert, corespunde uneori tumorii Burkitt. IgM determinată în tumoră la 13 cazuri a fost găsită ușor sau moderat crescută la 6 din ele. La două din cazuri s-a găsit crescută IgE.

4. SARCOMUL IMUNOBLASTIC

(Sinonime : reticulosarcom, LM histiocitar).

Tumoră alcătuită din celule mari, cu citoplasma largă sau de întindere medie, intens sau moderat bazofilă, nuclei mari, nucleoli proeminenți. La microscopul electronic celulele conțin un mare număr de ribozomi. La 11 din 15 cazuri s-a găsit o creștere semnificativă (pînă la 30 de ori față de normal) a conținutului în IgM a tumorii ; faptul arată apartenența la sistemul B a elementelor imunoblastice. Lucru confirmat și de pozitivitatea reacției PAS în 7 cazuri.

Scanned with OKEN Scanner

5. IMUNOCITOM LIMFOPLASMOCITOID

(Sinonime: LM bine diferențiat, macroglobulinemia Waldenström)

Lennert distinge aici două aspecte:

a) tipul limfoid, comportînd un tablou citohistologic tipic pentru macroglobulinemia Waldenström, în care domină celulele limfoide, dar combinate uneori cu plasmocite;

b) tipul celular mixt, conținînd fie imunoblaști, fie celule de mărime medie limfoide sau plasmocitoide, fie celule mici limfoide sau plasmocitoide.

Sînt totdeauna difuze. PAS-ul a fost pozitiv în 29 din 30 de cazuri, iar în 1/3 din cazuri s-a găsit o creștere a IgM în ser; 8 bolnavi au leucemizat.

TABELUL VIII

Clasificația lui Lennert (Kiel, 1975)

Limfom	Sinonime	Tipul celular
Leucemia limfatică cronică	— LM limfoid (sau „limfocitic") bine diferențiat.	Limfocitul matur, rari limfoblaști și prolimfociți.
Germinocitom difuz (LM *centrocitic*)	— Limfosarcom limfoid; — LM limfoid (sau „limfocitic") intermediar; — tumoră cu celule centrofoliculare de tip ancoșate mici.	Celule limfoide cu citoplasma foarte ușor bazofilă, mai largă decît a limfocitului, nuclei neregulați, adesea ancoșați, cromatină fină, foarte mici nucleoli.
Germinoblastom (LM *centroblastic*)	— Limfom folicular; — LM nodular; — tumoră cu CCF ancoșate și neancoșate.	Elemente intermediare între limfoblast și germinoblast.
Sarcom imunoblastic	— Reticulosarcom; — LM de tip histiocitar.	Citoplasma bazofilă, largă sau moderat întinsă; nucleu mare; nucleoli proeminenți.
Imunocitom limfoplasmocitoid (*centrocitic*)	— LM limfoid bine diferențiat; — macroglobulinemia Waldenström.	a) tip „limfocitic": limfocite și plasmocite relativ frecvente; b) tip celular mixt: imunoblaști, celule limfoide medii, plasmocite.
Sarcomul și leucemia limfoblastică (paraleucoblastică). (Aici este inclusă și tumora Burkitt).	— LM limfoid slab diferențiat; — leucemie limfoidă acută; — tumoră cu CCF neancoșate.	Limfoblaști mici sau mari intercalați de celule „cer înstelat".

6. SARCOMUL ȘI LEUCEMIA LIMFOBLASTICE (paraleucoblastice).

(Sinonime: LM limfoid slab diferențiat, leucemie limfoblastică acută, tumoră cu celule centrofoliculare neancoșate).

Acest grup este mai neclar definit. Lennert include aici sarcoamele și leucemiile alcătuite uniform din celule limfoide mici sau medii, cu citoplasma moderat bazofilă, alternate uneori cu așa-zisele celule „cer înstelat". Tumora Burkitt se află clasificată aici. Nici reacția PAS și nici analizele imunologice nu permit o mai precisă conturare. Microscopia electronică ar aduce unele diferențieri între tipul cu celule mici, care apare numai la copii și tipul cu celule mijlocii, întîlnit mai ales la adult, în sensul că numai prima formă ar conține „buzunare" (pockets) nucleare în celulele cu nucleu ancoșat, care predomină.

Lennert, după ce amintește limfomul cu celule avînd nucleu convolut, descris de Lukes-Collins și care ar deriva din timus (singura reacție specifică fiind fosfataza acidă, care dă o pozitivitate focală solitară), conchide că toate limfoamele maligne care intră în clasificația sa sînt de tip B.

Observații. Deși ambițioasă, clasificația lui Lennert și colab. suferă de unele inconveniente, care o fac fie fragilă, fie inaplicabilă în practica zilnică. Este inaplicabilă rutinier, în primul rînd pentru că recurge la investigații aparținînd doar laboratoarelor specializate (microscopia electronică, determinări imunologice de mare finețe aplicate pe omogenatul tisular). Dar chiar utilizînd asemenea investigații, clasificația suferă de unele fragilități în sensul că lasă neclarități: criteriul imunologic definește numai parțial diversele grupuri de LM; imunoglobulinele, așa cum reliefează Lennert, aparțin doar celulelor imunocompetente, calitate care diminuă sau dispare cu cît celulele limfoide devin mai anaplastice, mecanismele de producție sau de secreție putînd fi perturbate. Pe de altă parte, tot după Lennert, orice celulă de tip B ar putea să secrete imunoglobuline fără a fi necesar să se transforme într-o celulă secretantă ca plasmocitul. Sau s-ar putea ca un limfocit devenit patologic să dobîndească proprietate secretantă pe care nu o are în stare normală. Lennert conchide că investigarea imunochimică a omogenatului tisular nu constituie o probă decisivă pentru definirea unui tip de limfom. De remarcat, de asemenea, că sinonimia dintre sarcomul imunoblastic, RS și LM histiocitar este menită să creeze importante confuzii în lumina cunoștințelor actuale. Utilizarea termenului de limfoblast în sens de celulă precursoare (paraleucoblast sau celulă „null") introduce o altă ambiguitate generatoare de confuzie. Adăugăm că nimeni nu a adoptat termenii de germinocit și germinoblast, respectiv germinocitom și germinoblastom.

Scanned with OKEN Scanner

În 1978, Lennert și Stein (11b) formulează o reașezare a clasificației din 1975 (tabelul VIII bis). Verificarea în timp a primei lor clasificații cu datele clinice, le permite să distingă 2 mari grupe : LM cu malignitate redusă și cu malignitate ridicată. Exceptînd LM cu celule convolute (tipul cu fosfatază acidă), mycosis fungoides, sindromul Sézary (și, bineînțeles, LLC cu celule T și limfoamele zonei T a limfoganglionului), care aparțin sistemului T, toate celelalte limfoame aparțin sistemului celular B. În total, 85% din LM ale autorilor sînt de origine B, 15% de origine T și 5% aparțin celulelor *null*.

TABELUL VIII bis.

Clasificația din Kiel (Lennert-Stein, 1978)

I. Limfoame cu malignitate redusă

LM (limfom malign) limfocitar
LLC cu celule B
LLC cu celule T
Leucemia cu prolimfocite
Leucemia cu celule „păroase" (hairy cell)
Mycosis fungoides și sindromul Sézary
Limfomul zonei T
LM limfoplasmocitar/—citoid (imunocitom limfoplasmocitar)
LM plasmocitar
LM centrocitic
LM centroblastic/centrocitic

II. Limfoame cu înalt grad de malignitate

LM centroblastic
LM limfoblastic
Tipul Burkitt
Tipul cu celule convolute (tipul cu fosfatază acidă)
Neclasificat
LM imunoblastic

Leucemia limfatică cronică cu celule B se distinge de LLC-T prin centrii de proliferare pseudofoliculari, care nu se văd niciodată în LLC cu celule T. Aceasta se caracterizează printr-o infiltrare celulară monotonă și creșterea importantă de celule epitelioide, tipice sau atipice, la care se adaugă prezența de limfocite cu nucleu convolut, lucru vizibil mai ales pe frotiuri sau amprente. Enzimatic, celulele LLC-T conțin mici aglomerări de fosfatază acidă, esterază nespecifică și activitate betaglucuronidazică.

În LM ale zonei T se regăsesc diferitele componente ale regiunii T a limfoganglionului : celule epitelioide, celule reticulare interdigitate și fibre reticulare.

Scanned with OKEN Scanner

Autorii recunosc că, spre deosebire de tumorile cu grad scăzut de malignitate, tumorile cu potențial malign ridicat sînt mult mai dificil de clasat în sistemul celular T sau B. Ei subliniază necesitatea asocierii examenului citologic pentru limfomul limfoblastic, acest diagnostic fiind confirmat prin reacția focală pozitivă de fosfatază acidă.

IV. Clasificația lui Belpomme și colab. (1977)

Utilizînd diverși markeri de membrană și testele care caracterizează atît limfocitele T și B cît și monocitele, Belpomme și colab. (1977) precizează, pe un număr de 150 de cazuri studiate, fenotipurile de membrană ale celor trei ordine de celule la om și, în funcție de acestea, alcătuiesc clasificația leucemiilor și hematosarcoamelor nehodgkiniene din tabelul IX.

TABELUL IX

Clasificația lui Belpomme și colab. (1977)

Neoplazia	cu celule T	cu celule B	cu celule „null"
Leucemia limfoidă acută (limfoblastică)	23%	—	76%
Leucemia acută imunoblastică	25%	25%	50%
Limfosarcomul neleucemic și leucemic	16%	58%	26%
Crizele blastice în leucemia granulocitară cronică	16%	—	83%
Leucemia limfatică cronică	4%	88%	2%
Mielomul	—	100%	—
Macroglobulinemia esențială	—	100%	—
Leucemia cu celule păroase („hairy cells")	—	50%	—
Reticulosarcomul	—	—	100%
Leucemia granulocitară acută	—	—	100%
Leucemia monocitoidă acută	—	—	50%

Din analiza acestui tabel rezultă:

1. NEOPLAZIILE CELULELOR T

Sînt rare. Cuprind afecțiuni acute, între care 25% din cazurile de leucemii acute limfoide și imunoblastice și 1/6 dintre limfosarcoame. Cei mai mulți bolnavi din acest grup sînt copii sau adulți tineri. Autorii cred că la acești bolnavi există anomalii ale timusului, știut fiind rolul timusului în leucemogeneza experimentală la animal.

Scanned with OKEN Scanner

2. NEOPLAZIILE CELULELOR B

În afară de mielom și macroglobulinemia esențială, care aparțin în exclusivitate sistemului limfoid B, proliferarea acestui sistem ocupă cel mai mare procent din cazurile de limfosarcoame neleucemice și leucemice. Toate aceste neoplazii s-au dovedit monoclonale, de cele mai multe ori de tip IgM, fapt demonstrat de altfel și de alți autori.

Exceptînd unele cazuri de leucemii imunoblastice și limfosarcoame, grupul limfoproliferărilor de tip B posedă unele trăsături comune : apar la adulți ; au evoluție cronică sau subacută ; celulele neoplazice sînt de obicei relativ bine diferențiate.

3. NEOPLAZII FĂRĂ MARKERI DE SUPRAFAȚĂ DETECTABILI (cu celule *null*?)

Includ cazurile de reticulosarcom studiate de autori, ca și majoritatea cazurilor de leucemie limfoidă acută. De asemenea, 1/4 din cazurile de LS neleucemice și leucemice. Autorii cred că acest grup cu celule „null", fie cuprinde tumori ale celulelor tulpină, fie este vorba de modificări funcționale ale celulelor limfoide consecutive procesului neoplazic.

Este de relevat faptul că Belpomme și colab. nu privesc metodele imunologice drept exclusive sau decisive în tiparea limfoamelor maligne, ci consideră esențială în acest sens corelarea investigațiilor imunologice în context cu toți ceilalți parametri : tabloul clinic, factorii de prognostic, datele citologice, histologice, mic roscopia electronică.

CONCLUZII ȘI APLICARE ÎN CLINICĂ

Clasificațiile actuale imunologice ale limfoamelor maligne se bazează, precum s-a văzut, pe investigații deseori de mare dificultate tehnică, accesibile numai unor laboratoare specializate. Repartiția pe sistemele celulare limfoide ar fi, pînă la această dată, aproximativ următoarea (1, 2, 3, 11, 11b, 12, 14, 15, 16, 19), în practică fiind suficiente pentru diferențiere testele indicate în tabelul X:

TABELUL X

Markeri imunologici T și B (13b)

Markeri	T	B
Imunologici	Formarea de rozete cu eritrocite de oaie	Secreție de Ig demonstrată prin imunofluorescență și metoda imunoperoxidazei
Citochimici	Activitate fosfatază acidă +	

a) Proliferări ale sistemului celulelor B:

— exclusiv B : mielomul, macroglobulinemia Waldenström, boala lanțurilor grele ; de asemenea, așa-zisele sarcoame plasmocitare sau limfoplasmocitare ale unor autori ;

— aproape exclusiv B : leucemia limfatică cronică (s-au descris recent și LLC cu celule T) ;

— peste 50% din limfosarcoamele cu celule mici și limfoblastice ;

— un mare procent de sarcoame imunoblastice ;

— limfomul Burkitt.

b) *Proliferări ale sistemului T :*

Nu sînt consemnate, cel puțin pînă la această dată, proliferări care să aparțină exclusiv celulelor T. Participă la acest sistem :

— Mycosis fungoides și boala Sézary ;

— LS cu celule convolute sau cerebriforme ;

— unele sarcoame imunoblastice ;

— boala Hodgkin(?).

Urmărind schema modulării celulei limfoide, între diversele momente de modulare ale celulei limfoide și limfoamele maligne ar exista următoarele corespondențe :

a) *În seria T :*

— celula limfoidă T_1 : LAL și LS cu nuclei convoluți evoluînd spre leucosarcomatoza Sternberg ;

— imunoblastul T : celula Sternberg(?) ;

— celula T_2 : mycosis fungoides și maladia Sézary.

b) *În seria B :*

— celula B_1 : leucemia limfatică cronică ;

— imunoblastul B : sarcomul imunoblastic ;

— plasmocitul : plasmocitomul ;

— limfoplasmocitul : boala Waldenström ;

— celula limfoidă B_2 (celulele centrofoliculare) : limfosarcoamele clasice.

Indicii pentru recunoașterea tipului celular în limfoamele maligne:

— ancoșarea (clivajul) nucleară ar indica originea centrofoliculară mai ales dacă LM este de formă nodulară ;

— aspectul plasmocitoid, limfoplasmocitoid și tendința la formarea de ergastoplasmă indică originea B a unui imunoblastosarcom ;

— aspectul convolut (răsucit) al nucleului, alături de prinderea masivă a ganglionilor mediastinali (și pozitivitatea fosfatazei acide paranucleare) indică originea limfoidă T (LS limfoblastic cu celule convolute).

Trebuie însă de observat că toate investigațiile imunologice, chiar foarte pretențioase (detectarea receptorilor celulari de suprafață, imunofluorescența, determinarea imunoperoxidazelor), alături de mi-

Scanned with OKEN Scanner

croscopia electronică și citochimie nu au rezolvat problema tranșării în fiecare caz a tipului imunologic de celulă sau limfom malign. De aici diversitatea punctelor de vedere a celor aproximativ 50 de clasificații apărute în ultimul timp și, implicit, lipsa lor de aplicabilitate practică.

Dificultățile de clasificație a LM a făcut pe Taylor (1977) să afirme că „limfoamele sînt inclasificabile". Actualmente, „nu numai clinicienii au necazuri în a se înțelege cu histopatologii, dar se pare că nici histopatologii nu sînt în stare să se înțeleagă unul cu altul", afirmă Aisenberg. Aici nu unul singur, ci mai mulți ucenici vrăjitori au evocat noi spirite limfoide și limfoproliferative și nu mai găsesc formula magică a reordonării confuziei și amestecului care s-a iscat.

Cea mai bună clasificare încă nu a apărut, pentru că încă nu dispunem de criterii infailibile. Utilizarea practică a noilor clasificări rămîne încă nesigură, corelațiile anatomo-clinice fiind insuficiente. De pildă, Nathwani și colab. (1978), făcînd un studiu critic al clasificației Lukes-Collins, cea mai importantă și bogată în aporturi originale dintre noile clasificări, conchide că această clasificație nu are în genere o aplicabilitate clinică și prognostică semnificativă.

Astfel, dacă în adevăr cîștigul teoretic în domeniul imunologiei și al mecanismului cancerogenezei limfoproliferărilor este remarcabil, cîștigul utilității clinice, mai precis, terapeutice, este încă modest.

Cu aceste rezerve și ținînd cont că în ultimă instanță toate clasificațiile amintite se bazează în primul rînd tot pe aspectul morfologic al celulelor, vom încerca să analizăm pe bază de tipuri celulare relativ bine statutate, ce nomenclatură a diverselor limfoame pare mai adecvată, reprezentînd o mediană a cunoștințelor actuale și ce clasificație — provizorie bineînțeles — ar putea servi drept instrument de lucru în practică (tabelul XI).

1. *Limfocitul mic*, așa-numitul pînă de curînd limfocit „adult" sau „matur" (denumiri inadecvate, limfocitul fiind o celulă potențială și nu terminală), atunci cînd suferă blocajul transformării sale blastice duce la *leucemia limfatică cronică**.

2. Așa cum am mai afirmat și altă dată, de acord cu numeroși autori (Heilmeyer, Bernard, Weil, Patrasi, Tischendorf, Fleischaker, Leiber, Ludin, Cazal) (17) și așa cum foarte recent a fost confirmat de Rappaport, Pangalis și colab. (1977) există o netă deosebire între celula leucemiei limfatice cronice, care se prezintă morfologic de aspect normal, fără dismorfism, și celula limfosarcomului „cu celule mici" sau limfomul malign bine diferențiat al lui Rappaport. Aici este vorba

*) Unii autori clasifică la nivelul limfocitului și leucemia cu tricholeucocite („hairy cells" = „celule păroase"), dar pentru alți autori aceste elemente ar avea origine monocitară.

TABELUL XI

Limfoamele maligne nehodgkiniene. Raporturile cu stări leucemice

Celula blocată proliferată	Sarcom	Sarcom leucemizat	Leucemie	Obs.
Limfocitul fără atipii morfologice.	—	—	Leucemia limfatică cronică	Mycosis fungoides și boala Sézary ar reprezenta proliferări ale limfocitului T. Leucemia cu tricholeucocite? (limfocit T? B? histiocit?)
Celulă limfoidă mică cu nuclei patologici, anaplazici	LS cu „microlimfoblaști"	Leucosarcomatoză Sternberg	Leucemie acută limfoblastică (rară în această formă)	—
Limfoblastul morfologic normal	—	—	LAL	
nuclei intens anaplazici	Limfoblastosarcom.	Poate evolua spre leucosarcomatoză		
Imunoblastul (anaplazic)	Sarcomul imunoblastic	Rar poate leucemiza	—	Poate fi primitiv sau secundar limfadenopatiei angioimunoblastice.
Limfoblast? Imunoblast? + macrofage în „cer înstelat".	Tumora Burkitt	—	—	—
Limfoplasmocitul	a) Boala Waldenström	Macroglobulinemia leucemizată	—	—
	b) Boala lanțurilor grele			Cu Ig G — boala Franklin ; Cu IgA — boala Seligman
Plasmocitul	Plasmocitom	—	Leucemia cu plasmocite	—
	LM plasmocitare extramedulare	—	—	

Celula blocată proliferată	Sarcom	Sarcom leucemizat	Leucemie	Obs.
	Sarcom histiocitar	—	Leucemia (histio) monocitară	Celula proliferantă a histiocitozei X
Imunoblaşti intens anaplazici Celule „null"? Alt element?	Sarcoame inclasabile (RS)	În rare cazuri pot leucemiza		Dismorfism celular foarte accentuat

de o celulă cu caractere „mai tinere", avînd următorul aspect : formă rotundă, mărimea 10—15 microni, uneori mai mare ; citoplasma redusă la un lizereu fin, uneori vizibil numai la un pol al celulei şi colorată de la albastru închis la albastru cenuşiu ; nucleul ocupă aproape întreaga celulă ; el prezintă scobituri sau fisuri, ultimele creînd deseori două fragmente nucleare inegale, cu sau fără punte între ele ; se găsesc de asemenea frecvent nuclei lobulaţi şi nuclei convoluţi (cerebriformi) ; cromatina are structură fin reticulată, densă în celulele de talie mică, astfel că la prima impresie, mai ales pe secţiuni, acestea simulează un limfocit normal ; nucleul posedă 1—2 nucleoli, uneori mai mulţi, deseori monstruoşi ; frecvente mitoze (fig. 9 b, c şi fig. 10).

Limfocitul „mic", „normal", nu generează sarcom, ci aşa-zisul „LS cu celule mici" care conţine de fapt celule evoluate, intermediare, aflate la începutul transformării blastice („microlimfoblaşti" în terminologia tradiţională).

Distincţia se impune, deoarece evoluţia clinică, prognosticul şi indicaţiile terapeutice sînt cu totul diferite. Spre deosebire de LLC, maladie de lungă durată, LS cu „microlimfoblaşti" evoluează cu febră, mase tumorale ganglionare, fie mediastinale, fie mezenterice, alteori splenomegalie monstruoasă sau spleno-hepatomegalie ; de asemenea, invadare precoce a măduvei osoase şi leucemizare deosebit de frecventă, durata bolii, în cazurile noastre, la tineri şi adultul tînăr, fiind între 2—15 luni. De fapt, celula acestui sarcom este cea descrisă de Sternberg în „leucosarcomatoză". Din cele 19 leucosarcomatoze pe care le-am avut în observaţie, în 7 cazuri această celulă a format elementul aproape exclusiv, atît în sînge cît şi în organele hematopoietice, iar în celelalte cazuri ea a fost de asemenea constant găsită, predominînd însă elemente blastice intermediare de dimensiuni mai mari, pînă la imunoblast (acesta a prevalat în 2 cazuri).

3. *Imunoblastul.* Termenul de imunoblast a fost propus în 1963 de Dameshek pentru celula bazofilă voluminoasă în care se transformă

limfocitul, iar astăzi este înțeles de cei mai mulți hematologi ca etapa cea mai evoluată a dezvoltării blastice a limfocitului T sau B, după care urmează trecerea către limfocitul efector (T_2, B_2, plasmocit, limfoplasmocit).

Morfologic, imunoblastul este o celulă cu diametrul între 15—25 microni, uneori mai mult, cu o citoplasmă largă sau de întindere medie, dar întotdeauna intens bazofilă și pironinofilă, care nu conține granulații, în schimb prezintă adesea vacuole. Bazofilia citoplasmei reflectă creșterea ARN și sinteză proteinică în faza S, înainte de mitoză. Nucleul este voluminos, rotunjit, neincizat și conține o cromatină fină și omogenă precum și 2—3 nucleoli (fig. 12). La microscopul electronic se observă un mare număr de ribozomi și poliribozomi. Imunoblastul este negativ sau slab pozitiv pentru esteraza nespecifică și pentru fosfataza acidă, dar întotdeauna pozitiv, sub formă granulară pentru betaglucuronidază.

Afecțiunea în care întîlnim cea mai caracteristică proliferare reactivă „benignă", sau în orice caz „premalignă", a imunoblastului este limfadenopatia angioimunoblastică (LAI). Proliferarea malignă a imunoblastului, fie primitivă, fie secundară unei LAI, duce la *imunoblastosarcom* (IS), denumit de Dumont și col. și limfom hiperbazofil. Spre deosebire de LAI, în IS este vorba de un imunoblast patologic, anaplazic, cu stigmate maligne (nuclei dismorfi, bogăție nucleolară) (fig. 13).

Apariția secundară (după LAI) sau primitivă, după solicitări infecțioase, alergice sau pe fond de deficit imun (congenital sau iatrogen) conferă IS personalitate biologică bine definită (p. 79). Astfel, IS constituie un exemplu tipic de limfom prin blocarea modulării imunologice pe o anumită treaptă a transformării blastice. Așa cum decurge logic, în IS se pot găsi și plasmocite, „plasmoblaști", etape care urmează imediat imunoblastului. Acesta însuși poate prezenta forme plasmocitoide, forme de trecere între IS și sarcoamele limfoplasmocitare și plasmocitare, denumite de unii autori *plasmocitom slab diferențiat*. IS poate leucemiza. Mathé și col. au descris o leucemie acută imunoblastică primară, dar termenul lor de imunoblast am văzut că este mai lax. S-a descris și un IS ca tumoră localizată, reprezentînd organul țintă al unei reacții autoimune (de ex. tiroidita Hashimoto).

4. Blocajul imunologic al ciclului transformării blastice limfoide la etapa care urmează imunoblastului, adică la etapa de *limfoplasmocit* și *plasmocit*, duce la *macroglobulinemia Waldenström* și, respectiv, *la plasmocitom*, precum și la LM plasmocitare extraosoase (mai ales ale cercului Waldeyer). Proliferarea limfoplasmocitară însoțită de elaborarea excesivă a unei secvențe din lanțurile grele duce la diversele forme ale *bolii lanțurilor grele*.

Scanned with OKEN Scanner

5. O problemă dificilă este nomenclatura care trebuie adoptată pentru etapele de transformare blastică intermediare, aflate între limfocitul mic și imunoblast. Am văzut că în ceea ce privește celula B, pentru Lukes și Collins aceste etape au loc în centrul germinativ, astfel că elementele respective au căpătat denumirea de celule centro-foliculare (CCF) (cu 4 forme evolutive : ancoșate mici și mari, neancoșate mici și mari). CCF corespund centroblastului și centrocitului lui Lennert. Pentru sistemul celulelor T nu s-a conferit o denumire particulară elementelor intermediare dintre limfocit și imunoblast, deși — evident — aceste elemente există.

Așa cum apare firesc, cel puțin în etapa actuală a cunoștințelor, majoritatea autorilor acceptă pentru faza intermediară a ciclului blastic limfoid termenul clasic de *limfoblast*, desigur nu înțeles ca etapă de maturare, ci ca fază a modulării funcționale, imunologice. Acest termen are avantajul că, din punct de vedere morfologic, elementele limfoide pe care le definește corespund în general limfoblastului tradițional, iar pe de altă parte poate fi aplicat etapelor intermediare ale ambelor sisteme, T și B.

Din nefericire statutul actual al limfoblastului este unul din cele mai confuze. Am văzut că Mathé îl consideră element precursor derivat din celula tulpină. Lennert îl face sinonim „paraleucoblastului", termen care evocă de asemenea celula tulpină. Greaves și colab. îl consideră sinonim cu imunoblastul (10).

Dificultățile definirii limfoblastului vin de acolo că acest concept este aplicat blaștilor din leucemia limfoidă acută (LLA) și studiul său se face pe aceste celule. În realitate se pare că există mai multe tipuri de „limfoblast". Unii autori au demostrat originea timică sau posttimică a Lb din LLA, alții originea B (mult mai rar însă), alții afirmă apartenența la grupul celular „null". Dar unii limfoblaști „null" par a fi celule pretimice, pentru că posedă o activitate terminală dezoxinucleotidil-transferazică, marker eventual al unor populații pretimice, iar alții ar putea fi limfocite pre-B, pentru că poartă antigenul B descris de diverși autori (Billing, Kadin, Schlossman, cit. de 13 b). Taylor afirmă de asemenea că multe din celulele „null" din LLA sînt de fapt de natură B, pentru că pe aceste elemente s-au detectat antigeni HL-B.

Rezultă astfel că limfoblastul este de fapt, cel puțin în bună parte, o celulă angajată imunologic. De remarcat că, spre deosebire de LLA care comportă mai ales celule „null", în limfoamele maligne predomină celulele de tip B. Taylor recunoaște că celulele avînd în general atributele limfoblaștilor (adică semănînd celulelor din LLA) reprezintă *un stadiu intermediar al transformării de la limfocitul nesensibilizat la imunoblast*. Remarcă însă că în acest caz rămîne neexplicată absența de limfocite și imunoblaști în clona neoplazică a LLA. Taylor explică

acest fapt printr-un ciclu celular scurt (într-o populație care proliferează rapid, cum este cea din LLA) al limfoblastului (leucemic), ciclul fiecărei celule fiind ocupat de faza S. Faza G_1 fiind extrem de rapidă, lipsește limfocitul, iar faza G_2 este ocupată de mitoze foarte rapide, astfel că și imunoblaștii apar puțini.

Nodular sau difuz, *limfoblastosarcomul* comportă elemente fie cu nuclei mai mult sau mai puțin regulați (fig. 9a și 11), fie cu nuclei anaplazici: ancoșați, fisurați, polilobați, conturnați (fig. 9b, c, d). Dimensiunile celulare sînt de obicei uniforme în caz de elemente cu nucleu regulat; în caz de nuclei dismorfi există o anizocitoză de diverse grade.

În cadrul LS limfoblastic intră și sarcomul cu microlimfoblaști descris mai înainte și leucosarcomatoza Sternberg, dar care se prezintă deseori cu elemente limfoblastice mari, nucleii fiind însă întotdeauna neregulați, displazici.

În literatura actuală, leucosarcomatoza Sternberg, care îmbracă totdeauna forma difuză, este descrisă sub denumirea de *limfom mediastinal cu celule T* sau *LS limfoblastic cu celule convolute*. Ambii termeni sînt însă prea restrictivi, deoarece nu toate LS Sternberg își au tumora primitivă („tumora-mamă") în ganglionii mediastinali, ea putînd să-și aibă sediul și în ganglionii mezenterici sau splenic, ori splen-o-hepatic; pe de altă parte, nu totdeauna LS Sternberg comportă celule predominant cu nuclei convoluți (cerebriformi).

6. *Reticulosarcomul* (RS). Referitor la noțiunea de RS, repudiată actualmente de majoritatea hematologilor, dar menținută în clasificația OMS, trebuie spuse următoarele:

a) Sarcomul *sincițial* este considerat un artefact de fixare.

b) Un mare procent din ceea ce se numea tradițional RS corespunde în realitate *imunoblastosarcomului* (p. 60).

c) *Sarcomul histiocitar*, admis de majoritatea noilor clasificații, este considerat foarte rar (fig. 14, 15). Dar s-a văzut că nici el nu aparține sferei RS, ci este o tumoră a sistemului fagocitelor mononucleate.

d) Precum am menționat, domeniul celulei reticulare s-a redus actualmente pînă aproape de dispariție pentru unii autori. Mai persistă sub această denumire *celulele dendritice* din corpusculii Malpighi, din foliculii ganglionilor și țesutului limfoid digestiv, despre care nici un sarcom nu a fost încă publicat; ele au un nucleu ovoid sau alungit, foarte clar, o membrană nucleară foarte distinctă și un nucleol central; aceste celule prezintă prelungiri citoplasmatice ramoase unite între ele prin desmosomi; ele captează particule antigenice pe suprafața lor, jucînd astfel rol în declanșarea răspunsurilor imunitare (7, 12).

e) Există unele rare sarcoame, ale căror celule mari, cu citoplasma albastră, mai pal sau mai pronunțat și de obicei multivacuolizată,

Scanned with OKEN Scanner

cu un nucleu de un dismorfism foarte pronunţat, cu anomalii nucleolare accentuate, realizînd unul din cele mai monstruoase tablouri de malignitate celulară, — nu pot fi clasificate, cel puţin în practica zilnică, drept sarcoame imunoblastice, deşi s-ar putea să aibă această origine. Dar gradul înalt de dismorfism le face de neidentificat ca imunoblaşti patologici. Pe de altă parte, aceşti presupuşi imunoblaşti şi-au pierdut caracterele funcţionale, imunologice, astfel că celulele nu pot fi tipate. Este de notat în acest sens faptul că cele două „reticulosarcoame" ale lui Belpomme şi colab. (3) nu purtau markeri nici pentru celula B, nici pentru T. Dacă nici anamneză de solicitări antigenice nu găsim, este imposibil de a categorisi aceste tumori drept imunoblastosarcoame. Pentru aceste rare cazuri, care ar putea fi cu celule „null" sau precursoare, trebuie acceptat pînă la o mai precisă caracterizare imunologică, termenul de *limfom malign inclasificabil*, deşi utilizarea mai departe, ca termen de aşteptare, a denumirii de *reticulosarcom* nu poate fi respinsă cu argumente solide.

* * *

Sînt necesare unele completări la considerentele de mai sus.

a) Blocajul imunologic la o anumită fază funcţională, la un anumit moment al transformării blastice, nu însemnează uniformitate absolută a unui singur element limfoid. De cele mai multe ori, într-un sarcom este vorba de o celulă care predomină şi care reprezintă celula neoplazică, dar alături de ea se găsesc şi elemente, în număr variabil, ale momentului blastic premergător sau al celui care urmează. Este vorba de un complex celular reactiv, fie ca un răspuns faţă de celula tumorală (mai ales în cazul cînd găsim, alături de polimorfism limfoid, inclusiv plasmocite, — şi histiocite, neutrofile, eozinofile), fie că celula tumorală îşi mai păstrează funcţia secretorie (imunoglobuline, limfokine) (19) ; fie că este vorba de surprinderea unui moment premergător epuizării capacităţii de modulare blastică, imunologică. În general acest context celular reactiv, corelat cu starea clinică, ar trebui să semnifice un răspuns mai eficace la tratament.

b) Uneori se poate produce o „transmutare" a unui limfom : astfel, LLC, LS „microlimfoblastic", precum şi mielomul se pot transforma în sarcom imunoblastic. Are deci loc o „deblocare" a unui moment celular blastic, sau o a doua comutare („switch on") către o fază celulară cu activitatea neoplazică superioară, imunoblastul fiind o celulă cu activitate mitotică. Taylor consideră că numărul imunoblaştilor într-o populaţie limfoproliferativă constituie un indiciu al ratei de proliferare a acelei populaţii (19).

c) Experienţa noastră nu confirmă aserţiunea că proliferările limfoide cu nucleu clivat (ancoşat) sînt de un prognostic mai favora-

bil. Dimpotrivă, clivajul nuclear a reprezentat întotdeauna un stigmat malign cu prognostic sumbru chiar sub tratament. De altfel, noi nu considerăm că prezența celulelor clivate într-un sarcom sau leucemie limfoidă acută semnifică *ipso facto* proliferarea unei anumite trepte celulare de evoluție intrafoliculară. Ancoșarea nucleului se însoțește de obicei și de alte dismorfisme nucleare : fisurare, polilobare, conturnare, precum și de atipii nucleolare ; aceste anaplazii multiple mărturisesc o stare malignă și nu neapărat evolutivă în transformarea blastică a celulei limfoide. O bună dovadă în sensul celor afirmate o constituie prezența aceluiași tip de celule în leucemiile limfoide acute pur medulo-osoase.

d) Frecvența covîrșitoare a limfosarcoamelor în contrast cu raritatea sarcomului histiocitar (alături de lipsa de malignizare a celulei dendritice), ar putea fi explicată :

— fie prin faptul că este atinsă preferențial o celulă imunologic activă, în solicitare funcțională continuă : aceasta ar explica hiperproliferarea (care poate fi pentru un timp reactivă, benignă) ;

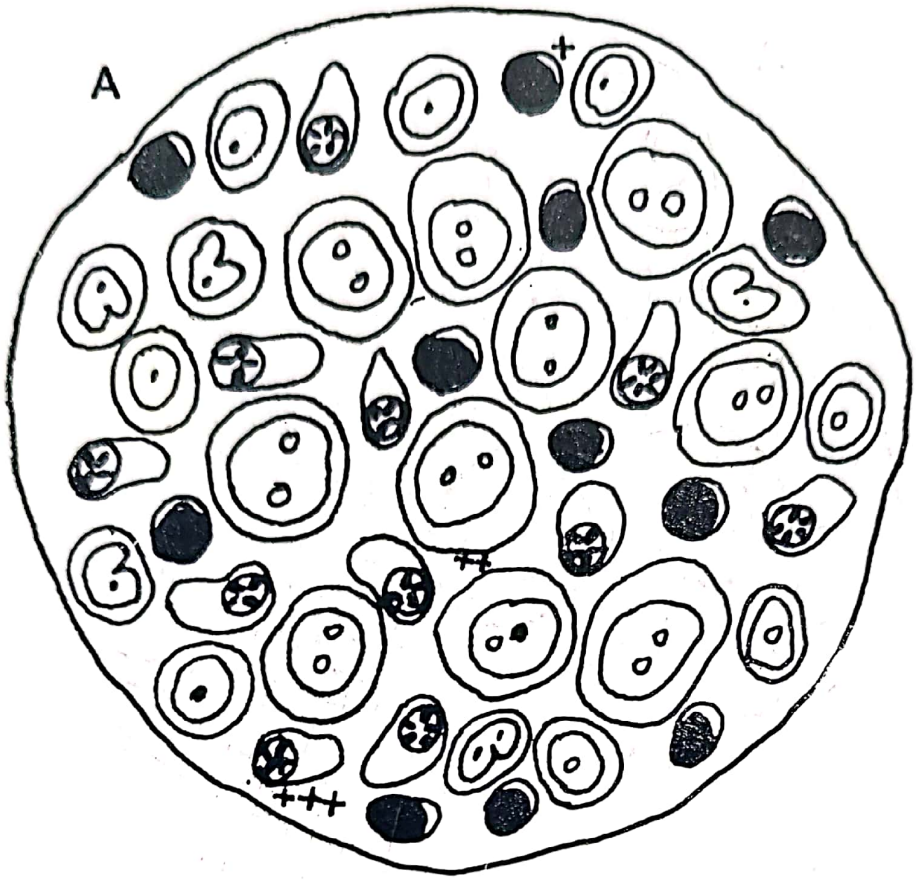
— fie că, în cadrul unei hiperactivități funcționale și proliferative, se crează posibilitatea apariției unei erori, inerentă unei astfel de hiperactivități sau condiționată de un defect structural (structural sistemului limfoid al unor indivizi), capabilă să producă o mutație oncogenă monoclonală.

e) Examenul citologic este indispensabil pentru clasificarea limfoamelor maligne, examenul pe secțiuni fiind insuficient pentru caracterizarea morfologică a celulelor. De aici confuzia cronică a elemetului celular din LS cu „celule mici" sau „bine diferențiat" (Rappaport) cu un limfocit normal, cînd în realitate este vorba de o celulă blastică. Citologia mai este utilă de asemenea în precizarea gradului de „înghețare", de uniformizare a tabloului celular sau, dimpotrivă, a gradului în care persistă modularea, — indicii prognostice importante : răspunsul terapeutic este cu atît mai mediocru și evoluția mai defavorabilă cu cît monotonia celulară este mai accentuată. Gradul de anaplazie celulară, alături de dispariția mai mult sau mai puțin completă a modulării constituie semnele majore ale coeficientului de malignitate.

f) Histopatologia, în afară de precizarea contextului arhitectural ganglionar, va trebui să precizeze de asemenea diverse elemente necesare pentru prognostic :

— aspectul *nodular* sau *difuz*, știut fiind că forma (sau etapa) nodulară a sarcoamelor este mai puțin gravă și cu răspuns terapeutic superior formelor difuze ;

— prezența de scleroză, fibroză lobulantă (poate anunța chimiorezistența) ; depozite hialine ; prezența de substanță amorfă PAS pozitivă în sarcomul imunoblastic ; necroză ; celule epitelioide (ar indica



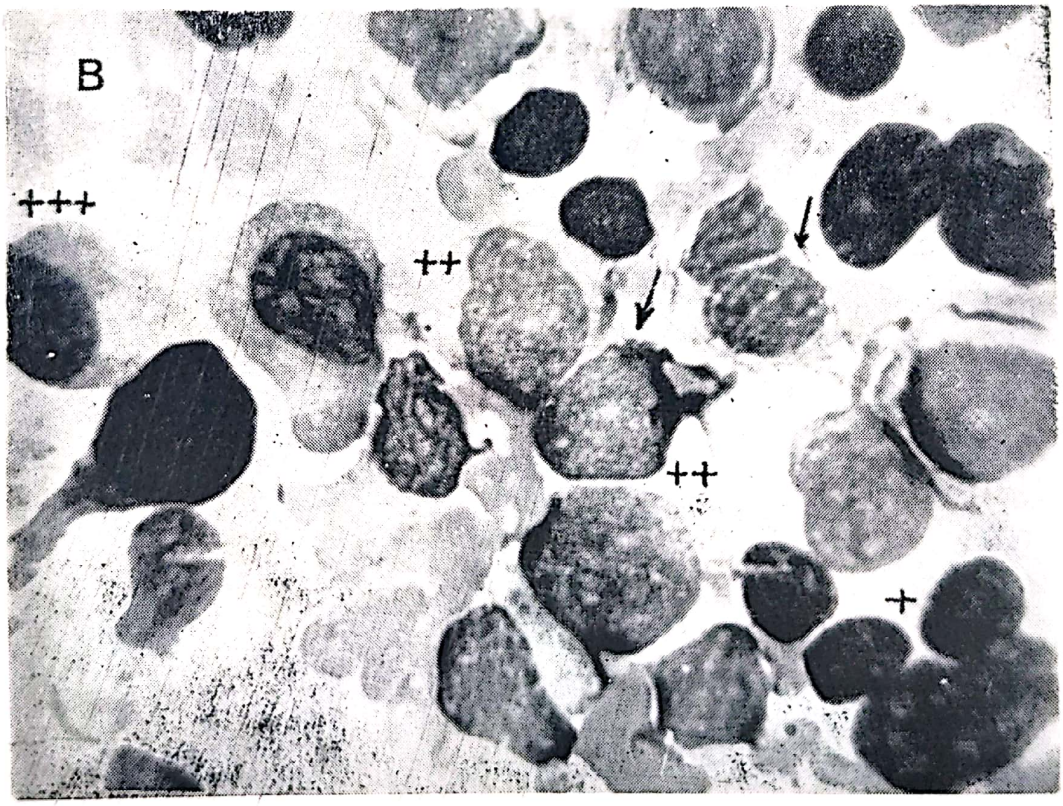
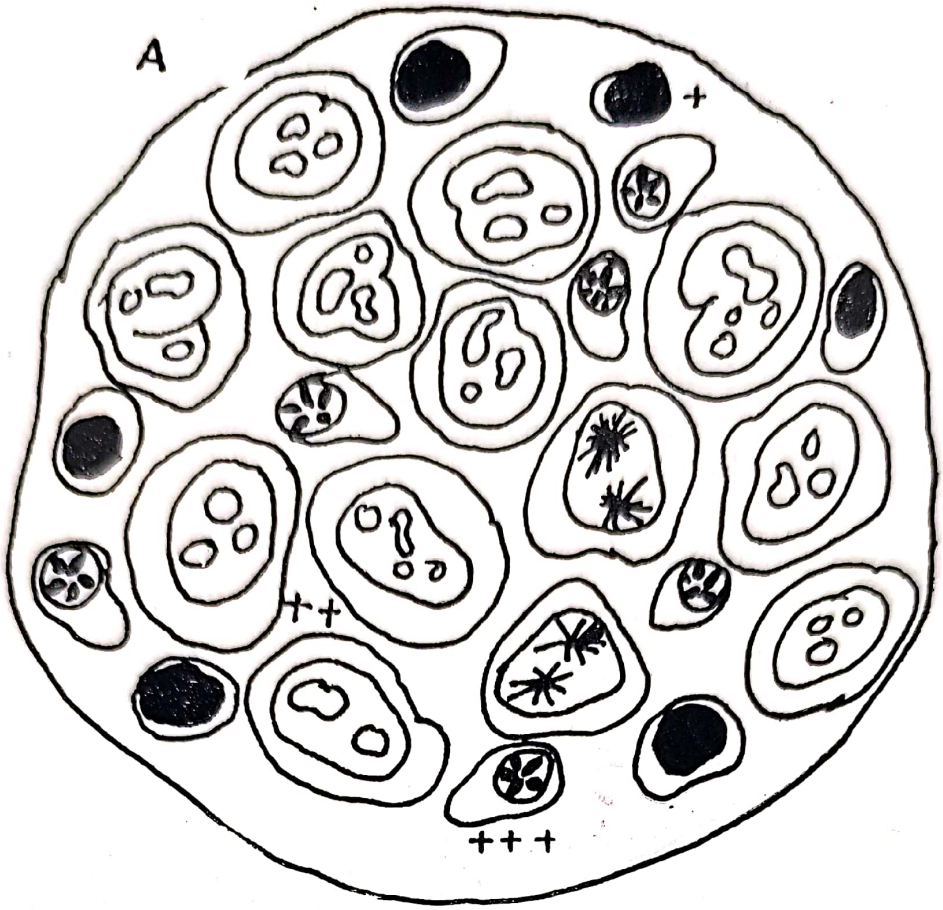


Fig. 6

Modulare limfoidă activă, polimorfă, în Limfadenopatia angioimunoblastică. În A, tablou schematic. În B, frotiu limfoganglionar. Se observă o mare varietate de celule blastice consecutive stimulării antigenice : limfocite (+), imunoblaşti (++), plasmocite (+++), celule centrofoliculare, intermediare (săgeată).

Scanned with OKEN Scanner



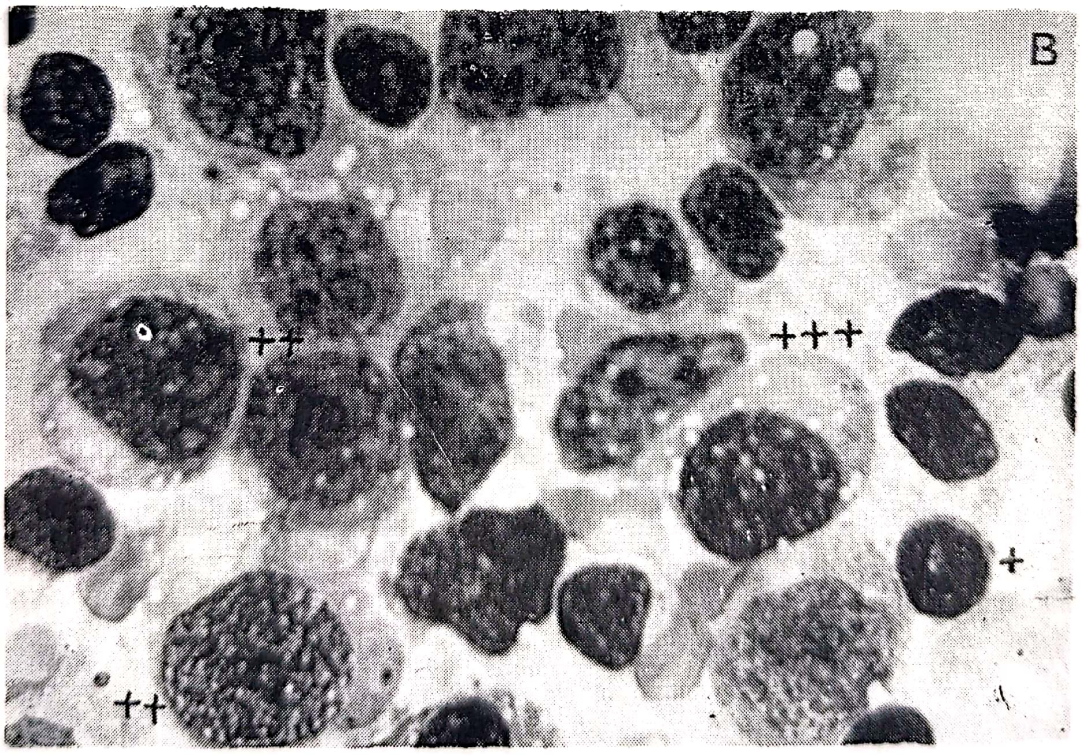


Fig. 7

Modulare limfoidă „blocată" (sarcom imunoblastic).

În A, tablou celular schematic. În B, frotiu limfoganglionar. Predomină imunoblaștii, cu intense stigmate maligne (++), unii din ei în mitoză. Se observă de asemenea rare limfocite (+), limfoplasmocite și plasmocite (+++). De notat și aspectul plasmocitoid al unor imunoblaști.

Scanned with OKEN Scanner

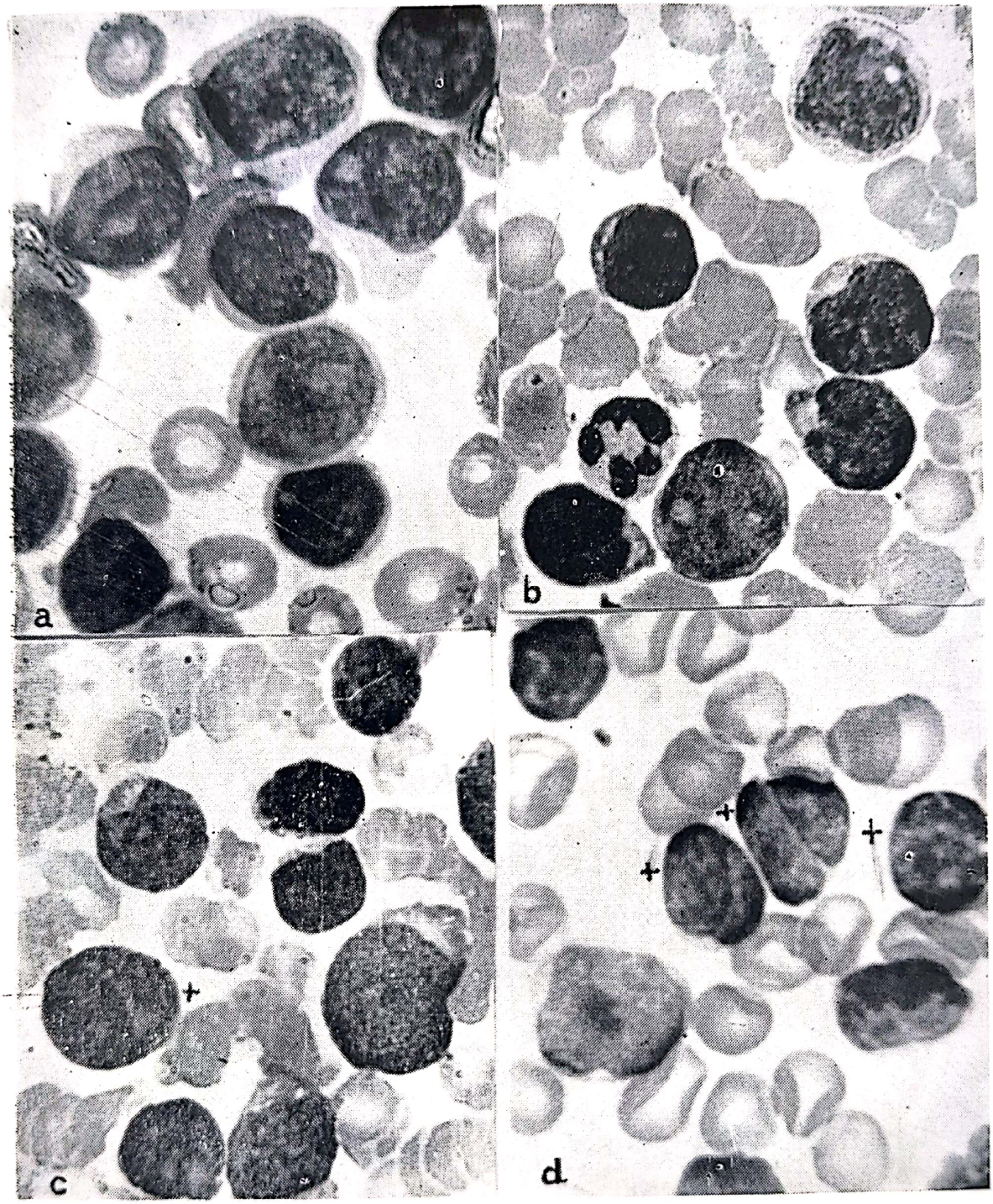


Fig. 9

Limfosarcoame limfoblastice

a. Cu celule B (nuclei regulați, unul dintre ei cu ancoșa) ; b, c, d. Cu celule T (nuclei „convoluți" +) : leucosarcomatoză Sternberg.

Scanned with OKEN Scanner

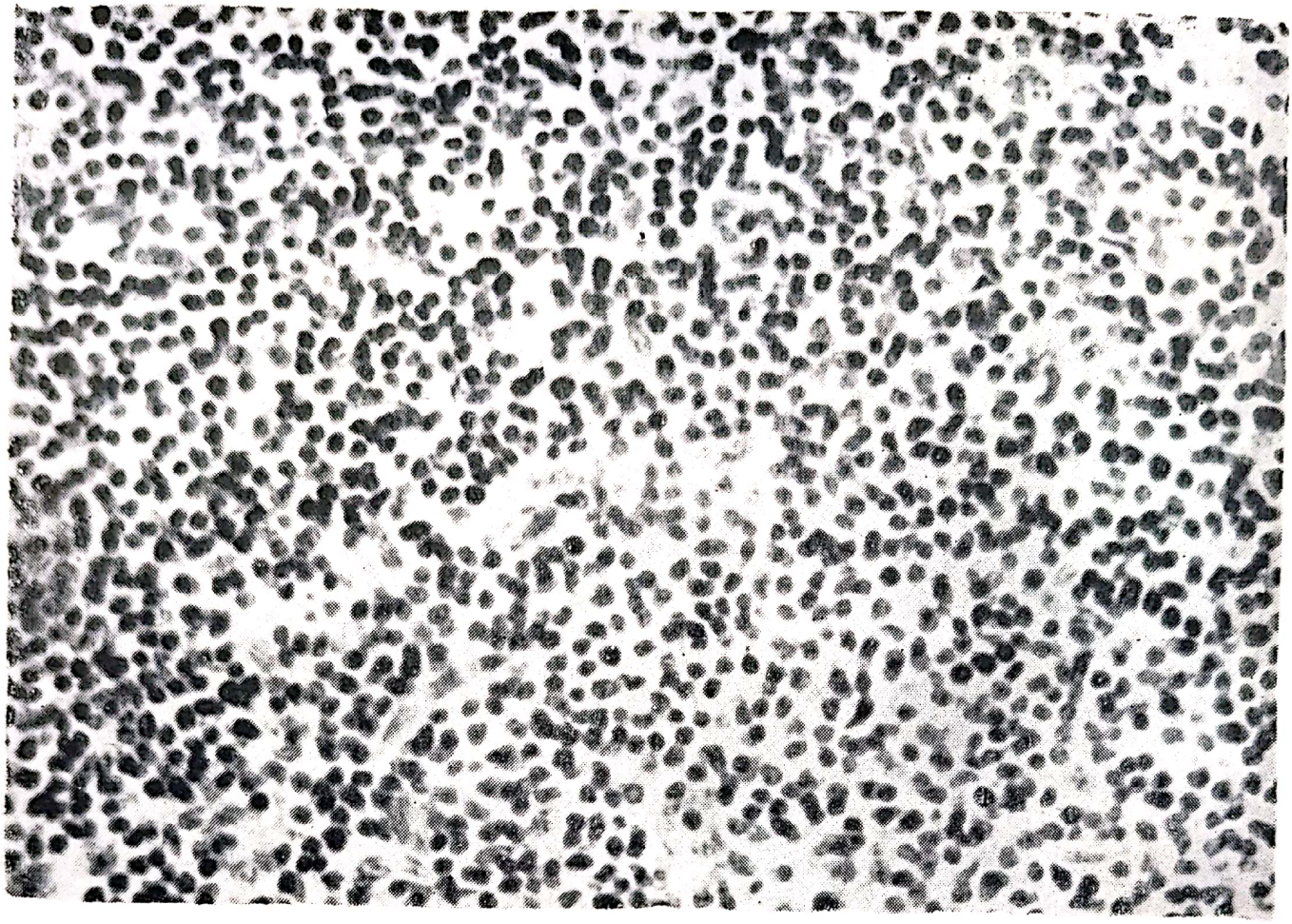


Fig. 10
Limfosarcom „cu celule mici“ (microlimfoblastic) (preparat Prof. dr. doc Gioconda Dobrescu).

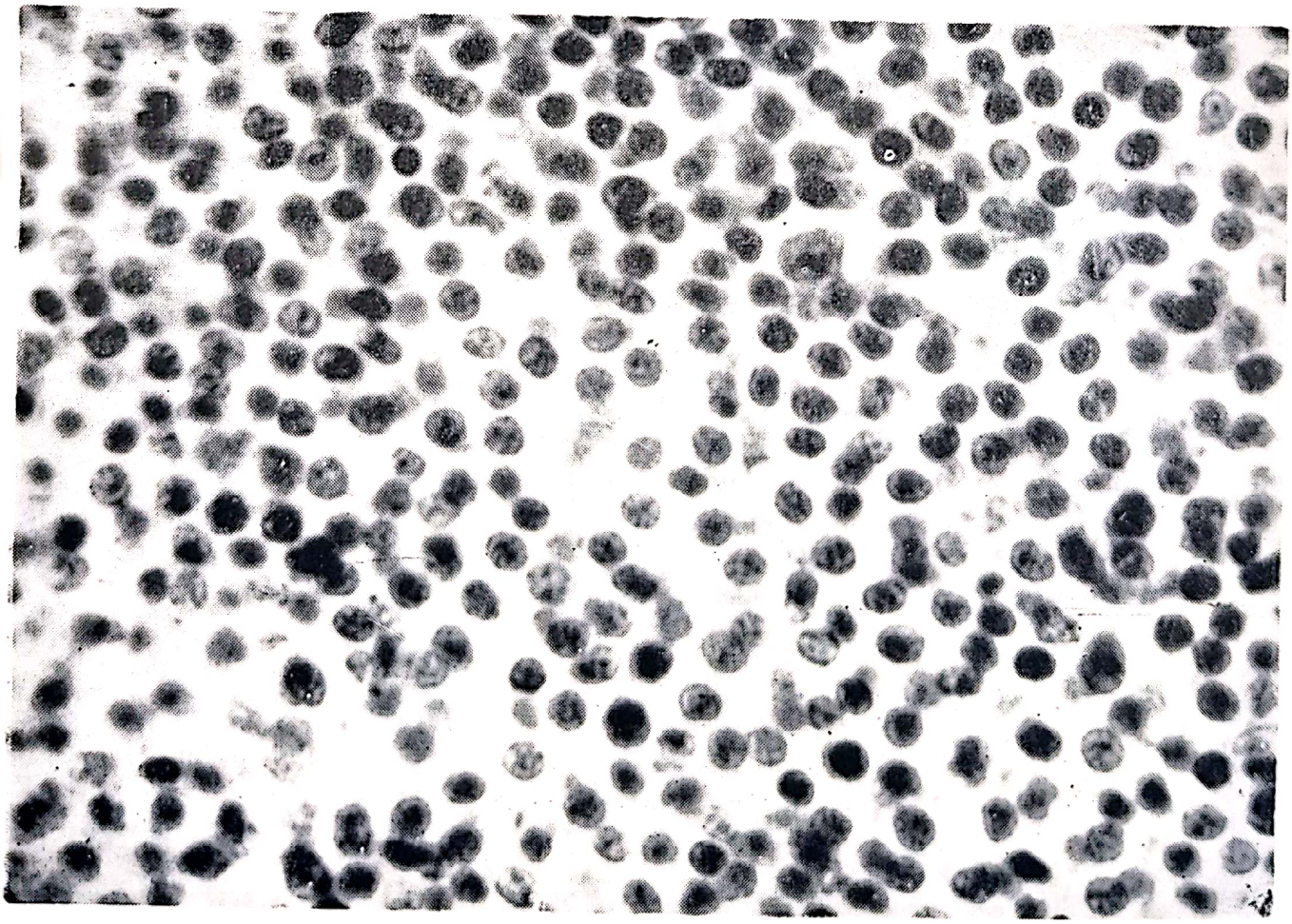


Fig. 11
Limfoblastosarcom cu nuclei regulați (preparat Prof. dr. doc. G. Dobrescu).

Scanned with OKEN Scanner

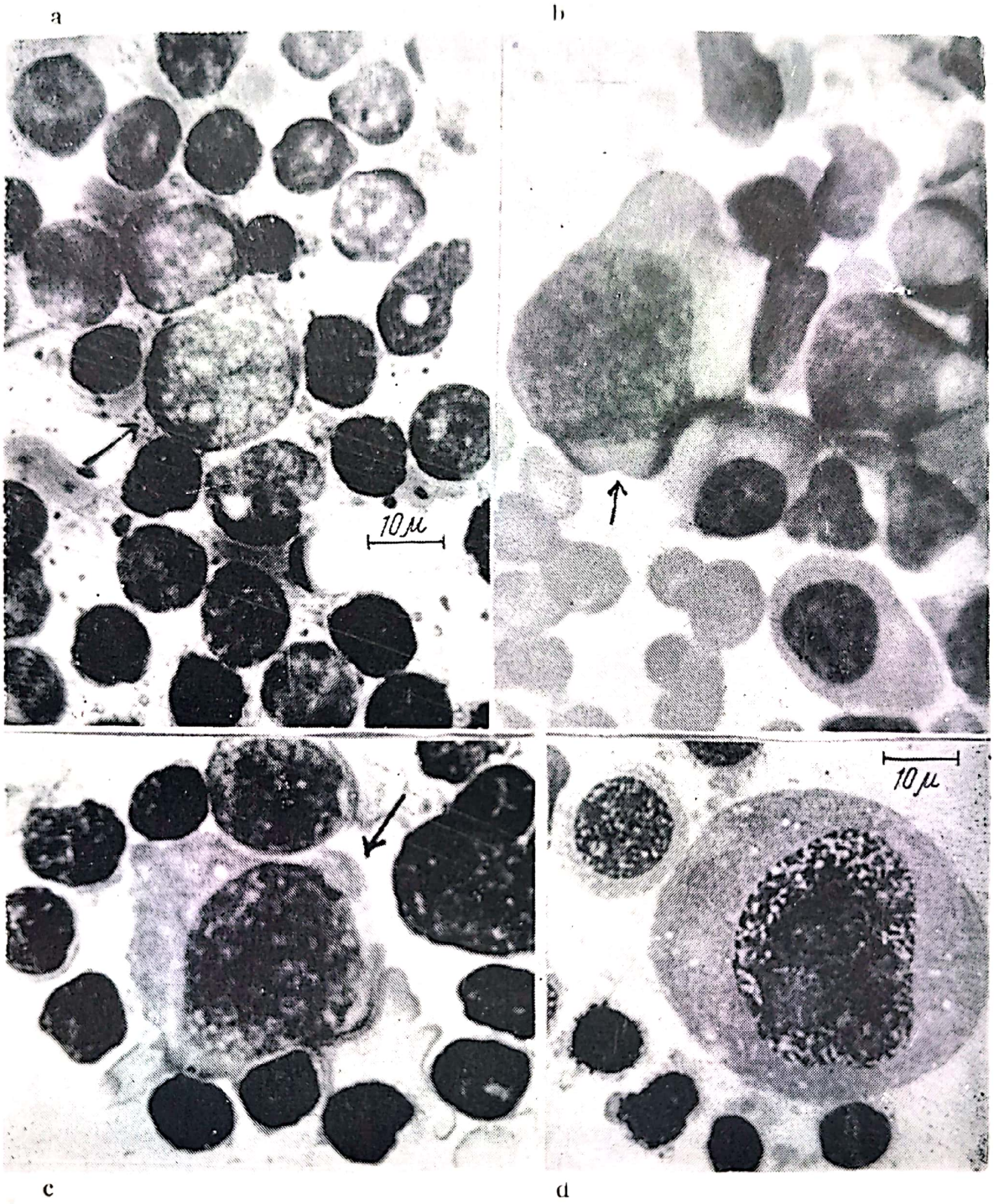


Fig. 12
Imunoblaști normali
în diverse procese ganglionare reactive
a. Limfadenită virotică ; b. Limfadenopatie angioimunoblastică ; c. Boala ghearelor de pisică ; d. Adenită alergică (aici imunoblastul simulează o celulă Hodgkin).

Scanned with OKEN Scanner

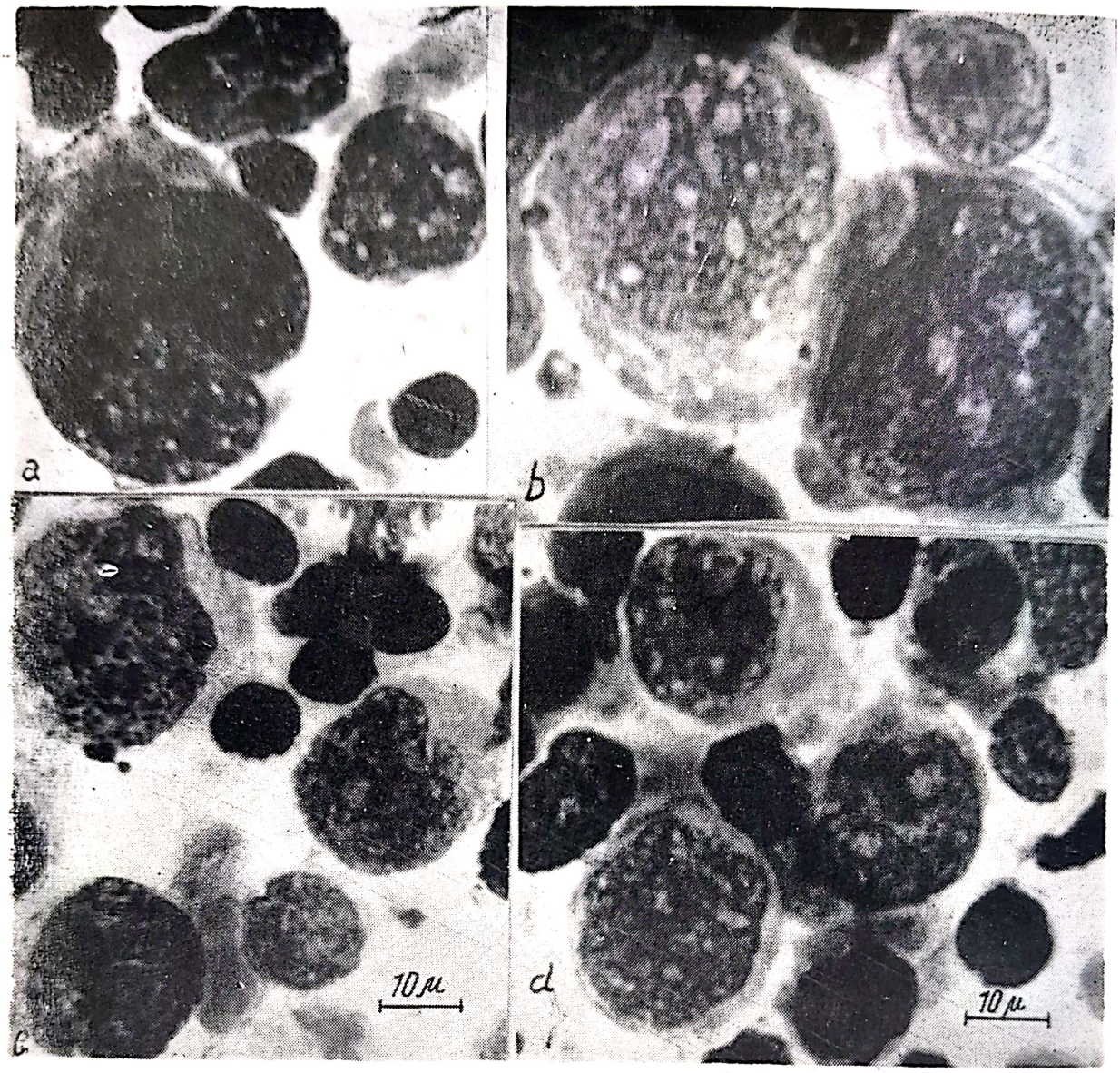


Fig. 13
Imunoblaști patologici
(Imunoblastosarcom, frotiu limfoganglionar).
Se observă nuclei dismorfi, cromatină inegal distribuită, nucleoli multipli, inegali. unii dintre ei giganți. Celulele Hodgkin din a. evocă descendență imunoblastică.

Scanned with OKEN Scanner

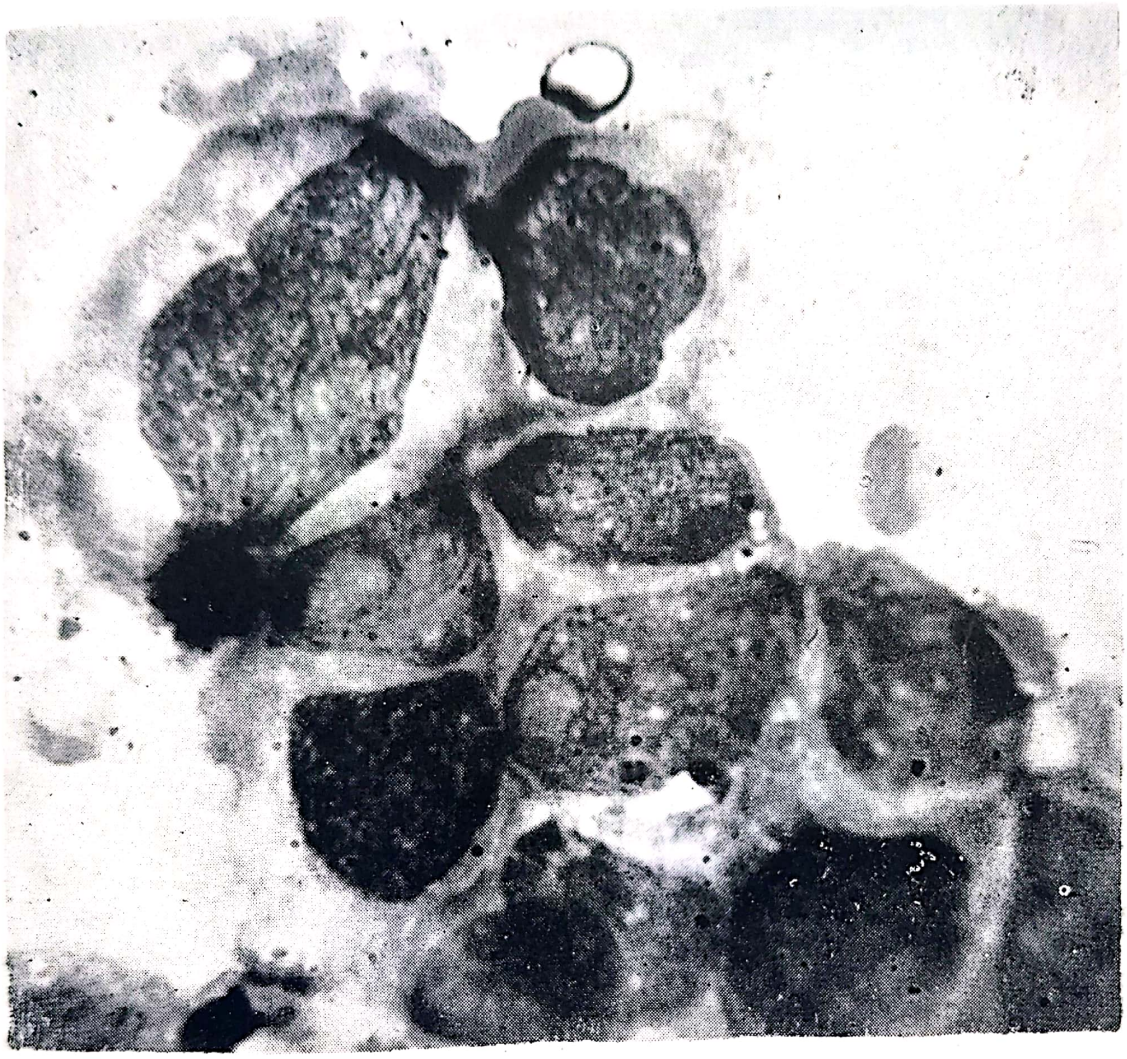


Fig. 14
Sarcom histioblastic
(frotiu limfoganglionar)

Scanned with OKEN Scanner

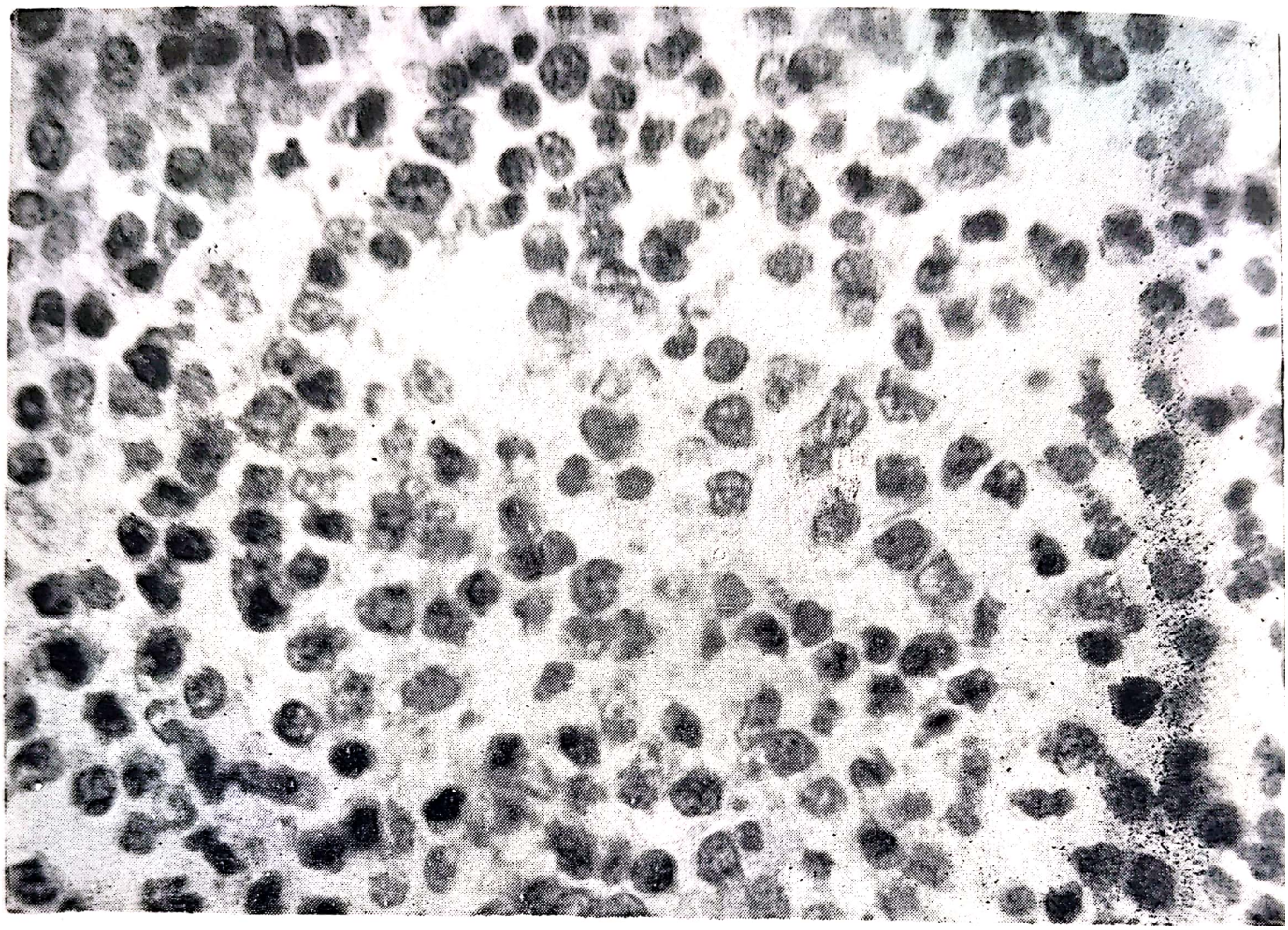


Fig. 15

Sarcom histiocitar
(prep. Prof. dr. doc. G. Dobrescu)

Scanned with OKEN Scanner

un prognostic mai favorabil); plasmocitoză reacțională (de asemenea de un mai bun prognostic);

— prezența unei bogate rețele de fibre de reticulină nu mai este considerată actualmente o probă formală pentru diagnosticul de „reticulosarcom" sau sarcom histiocitar; o rețea de fibre de reticulină dezvoltată se poate găsi și în sarcomul imunoblastic.

g) Coroborarea cu datele clinice este indispensabilă pentru un diagnostic cît mai corect. Hematologul clinician (care trebuie să fie un bun citolog), imunologul, histopatologul trebuie să colaboreze nemijlocit la fiecare caz în diagnosticul limfoamelor maligne, acest diagnostic neputînd fi decît multidisciplinar. Numai în felul acesta se pot face indicații terapeutice cît mai adecvat, capabile să permită ieșirea din zona insatisfacțiilor actuale.

BIBLIOGRAFIE

1. *Aisenberg A. C., Long J. C.* Am. J. Med., 1975, *58*, 300.
2. *Begemann H. u. Mitarb. Lymphozyt und klinische Immunologie*, Springer, Berlin, 1975.
3. *Belpomme D. et collab.* Europ. J. Cancer, 1977, *13*, 311.
4. *Benett M. H. et al.* Lancet, 1974, *11*, 405.
5. *Dameshek W.* Blood, 1963, *21*, 243.
6. *Diebold J.* Sem. Hôp. Paris, 1973, *49*, 2467.
7. *Diebold J.* Arch. Anat. Path., 1975, *23*, 97.
8. *Dorfman R. F.* Lancet, 1974, *11*, 1295.
9. *Gérard-Marchant R.* Rev. Méd. Toulouse, 1976, *12*, 681.
10. *Greaves M., Owen J., Raff M. — T and B Lymphocytes: Origins, Properties and Roles in Immune Responses.* Exc. Med. Amsterdam, 1974.
11. *Lennert K., Stein H., Kaiserling E.* Br. J. Cancer, 1975, *31* (suppl. II), 29.

11b. *Lennert K., Stein H.* în *Lymphoid Neoplasias*, I, ed. by G. Mathé et al., Springer, Berlin—New York, 1978.

12. *Lukes R. J., Collins R. D.* Cancer, 1974, 34, 1488.

12b. *Lukes R. J.* în *Lymphoid Neoplasias*, I, ed. by G. Mathé et al., Springer, Berlin—New York, 1978.

13. *Mathé G., Rappaport H. — Classification histologique et cytologique des maladies néoplasiques des tissus hématopoïétiques et lymphoïdes*, OMS, Génève, 1976.

13b. *Mathé G.* Vie Médicale, 1978, *59*, 1527.

14. *Nathwani B. N. et al.* Cancer, 1978, *41*, 303.
15. *Nathwani B. N. et al.* Cancer, 1976, *38*, 964.
16. *Pangalis G. A., Nathwani B. N., Rappâport H.* Cancer, 1977, *39*, 999.
17. *Popa G. — Citodiagnosticul prin punctie în practica medicală*, Ed. Med., București, 1971.
18. *Salmon S. E., Seligman* M. Lancet, 1974, *11*, 1230.
19. *Taylor C. R. — Hodgkin's Disease and the Lymphomas*, vol. 2, Churchill Livingstone, Edinburgh, 1977.
20. *Van Furth R. — Mononuclear Phagocytes*, Blackwell, Oxford, 1970.

Scanned with OKEN Scanner

Sindroame limfoproliferative imune : limfadenopatia angioimunoblastică și imunoblastosarcomul

de George Popa, Gioconda Dobrescu, Ligia Iordăcheanu, Ecaterina Hanganu

Introducerea criteriului imunologic în interpretarea sindroamelor limfoproliferative a dus la izolarea recentă a două entităţi nosologice în care intervenţia factorului imun este neîndoielnică : limfadenopatia angioimunoblastică (LAI) şi imunoblastosarcomul (IS). De gravitate diferită, cele două sindroame sînt înrudite evolutiv, LAI putîndu-se transforma în imunoblastosarcom.

A) Limfadenopatia angioimunoblastică (LAI)

Este o entitate nosologică aflată la limita între proliferările benigne şi maligne. *Clinic*, LAI prezintă caracterele unei afecţiuni limfoproliferative aparent reactive, ocupînd o poziţie intermediară între reacţiile imunoblastice compensatorii şi limfoamele maligne cu imunoblaşti (sarcomul imunoblastic), dar avînd o evoluţie febrilă şi caşectizantă. *Biologic*, LAI prezintă (inconstant) anemie hemolitică şi hipergammaglobulinemie policlonală ; *histopatologic*, se constată intensă modulare (transformare blastică) limfoidă, predominant imunoblastică, neoangiogeneză şi substanţă PAS pozitivă amorfă intra- şi extracelulară, cu dezorganizarea sau ştergerea structurii ganglionare.

Deşi existenţa afecţiunii a fost sugerată de numeroşi autori (4, 9, 27, 39), LAI a fost descrisă sub această denumire şi individualizată ca o nouă entitate de Lukes şi Barbara Tindle în 1973 (17), ulterior (1974) de Frizzera şi col. (11), care completează denumirea, adăugîndu-i un caracter biologic frecvent întîlnit, dar nu definitoriu — disproteinemia. Radaskiewicz şi Lennert (29) publică un an mai tîrziu 50 de cazuri similare sub numele de „limfogranulomatoza X", termen care însă nu a intrat în uz.

Condiţiile etiologice care determină declanşarea răspunsului imun exagerat ce constituie esenţa biologică a LAI pot fi grupate în trei categorii : a) afecţiuni virale, bacteriene şi parazitare (adenopatiile apărute în cursul unor afecţiuni virale prezintă aspecte de modulare limfo-plasmocitară similare celor din LAI) ; în LAI s-a decelat prezenţa unor secvenţe de ADN specifice virusului Epstein-Barr ; s-a descris

LAI în perioada de invazie tisulară a larvei *migrans* produsă de *Toxocara cannis* (2, 5, 16 etc.) ; b) reacţii alergice la diferite medicamente, în special la Difenil-hidantoină, care într-un prim stadiu este limfopenizantă, determinînd ulterior, printr-un mecanism de contrareglare, hiperplazie limfoidă ; alte chimioterapice (sulfonamide, barbiturice, analgezice) şi antibiotice (Penicilină, Griseofulvină) (30) ; c) afecţiuni neoplazice (un caz în literatură) (22).

Patogenic, constituirea LAI implică participarea ambelor sisteme imune (T şi B). Lukes (18) consideră că, sub influenţa agresiunilor antigenice severe şi repetate, limfocitul B suferă modificări parţiale ale antigenelor de histocompatibilitate, ieşind de sub influenţa reglatoare a sistemului T. Rezultă o proliferare exagerată a sistemului B, hiperimună, cu modulare intensă spre imunoblast şi plasmocit. Concomitent apare o reacţie de grefă-contra-gazdă ca răspuns al celulelor T faţă de perturbarea sistemului B. Fenomenele sînt potenţate de involuţia senescentă a timusului, ceea ce explică frecvenţa crescută a afecţiunii la vîrstnici.

Clinic, afecţiunea se caracterizează prin febră, *rash* cutanat (inconstante) şi sindrom adeno-spleno-hepatomegalic. Debutul poate fi brusc sau insidios, sugerînd un sd. consumptiv paraneoplazic (transpiraţii, inapetenţă, scădere ponderală) (18). Manifestarea inaugurală apărută în stare de sănătate aparentă sau pe fondul unei afecţiuni autoimune, variază de la caz la caz. Recent s-a descris afectarea specifică pleuro-pulmonară ca modalitate excepţională de debut în LAI şi pretînd la confuzie cu un proces infecţios secundar stării disimune a pacientului (23).

Caracterele biologice ale LAI, frecvent dar nu constant întîlnite, sînt : anemia hemolitică autoimună, cu test Coombs intens pozitiv şi hipergammaglobulinemie policlonală, uneori crioglobuline. Prezenţa anemiei atrage atenţia asupra afecţiunii, fiind adeseori prima manifestare vizibilă a unui sindrom de tip „iceberg" (8, 28). Numărul leucocitelor este normal sau moderat crescut (peste 20 000/mmc), cu formula leucocitară normală, eventual limfoplasmocitoză variabilă şi plasmocite *„flammés"*, în cazuri excepţionale. Plachetele variază numeric în limite normale, cu excepţia cazurilor de LAI cu hipersplenism asociat. Puncţia-biopsie medulară indică scăderea variabilă a celularităţii, eventual creşterea moderată a numărului de limfocite, plasmocite şi imunoblaşti, care însă apar grupaţi, spre deosebire de răspîndirea difuză care s-ar constata în cazul infiltraţiei neoplazice. Au fost raportate de asemenea modificări cromozomiale, dar nespecifice. Studiile imunologice au indicat perturbarea reacţiilor de imunitate celulară şi prezenţa unor complexe imune circulante (37).

Tabloul citologic şi histopatologic comportă următoarele particularităţi (6, 10, 12, 14, 21, 30, 32, 34, 36) : 1. structura ganglionului

este înlocuită de o proliferare mixtă, polimorfă, constînd din plasmocite, limfoplasmocite, limfocite, uneori imature, eozinofile și imunoblaști (în proporție de 20—30%) (35); imunoblaștii și plasmocitele sînt pironinofili și adeseori grupați în jurul vaselor. Celulele prezintă un caracter benign, cu rare mitoze. Uneori se pot recunoaște pe acest fond foliculi limfoizi, cu aspect șters, „arși". Rareori se constată o formă particulară de LAI, în care predomină un infiltrat masiv de elemente histiocitare cu caracter epitelioid, care creează dificultăți de diagnostic (3); 2. se asociază o proliferare intensă de vase mici de neoformație, cu agregate PAS pozitive în perete, predominînd în zona paracorticală. *Asocierea proliferării vaselor de neoformație și a limfocitelor transformate este considerată caracteristică pentru LAI*; 3. prezența unui material amorf PAS pozitiv, în general abundent, intracelular și în interstițiu, sub formă de „lacuri" sau „interdigitații". Palutke și col. (24) au precizat că substanța interstițială reprezintă fragmente de citoplasmă.

Afectarea splinei se traduce prin proliferări nodulare de imunoblaști, plasmocite și celule limfoplasmocitare, precum și prezența unor numeroase celule de dimensiuni mari, cu citoplasma spumoasă, Pearls pozitive. Alteori predomină fibroza, cu absența imunoblaștilor și celularitate scăzută. Hepatomegalia este fie participantă la modificările caracteristice afecțiunii, fie, uneori, este consecința unui proces de steatoză precirotică în absența infiltrației limfoplasmocitare sau imunoblastice.

Aspectul histopatologic ganglionar al LAI poate evolua de la tabloul clasic, cu intensă modulare limfoidă, neoangiogeneză și prezența substanței PAS pozitive, la depleție limfocitară, cu fibroză perivasculară neinfiltrativă, fapt care a sugerat comparația cu boala Hodgkin (38). Dacă boala Hodgkin reprezintă perturbarea limfocitului T iar celula Sternberg-Reed este, după Lukes, expresia poliploidă a unui limfocit transformat, LAI ar fi echivalentul B al bolii Hodgkin. Comparația este sprijinită și de aspectul granulomatos întîlnit uneori pe secțiuni și care a sugerat lui Lennert denumirea de „limfogranulomatoză X" pentru LAI (15,29).

O altă modalitate de evoluție histologică a LAI este blocarea modulării la nivel imunoblastic, cu apariția aspectului monomorf, cu frecvente mitoze atipice, în care imunoblaștii au dobîndit caractere de malignitate. Aspectul corespunde transformării LAI în imunoblastosarcom.

Evoluția clinică a LAI este imprevizibilă și corespunde aspectelor histopatologice menționate. Deși se citează evoluții lente, de durată, și vindecări spontane, majoritatea cazurilor ajung la exitus fie secundar unor agresiuni infecțioase severe survenite în faza de depleție

Scanned with OKEN Scanner

limfocitară, fie prin transformare sarcomatoasă. În aceste condiţii, tratamentul intempestiv cu citostatice poate grăbi apariţia stării de depleţie limfocitară sau a transformării maligne. Încercarea de reechilibrare imună B-T pare singurul tratament adecvat. El se încearcă a fi realizat prin corticoterapie în doze moderate, „antiinflamatorii", de durată, sau mai recent, prin imunoterapie cu Levamisol (1, 7). Administrarea de Levamisol în doză de 150 mg/zi timp de 2—3 zile pe săptămînă, 6 săptămîni, a dus la remisiune clinică, revenirea în limite procentuale normale a limfocitelor T şi B, cu pozitivarea reacţiilor de imunitate celulară şi dispariţia hipergammaglobulinemiei. Efectele favorabile ale celor două substanţe cu acţiune aparent contradictorie (corticoizi — Levamisol) se explică astfel: Prednisonul, deprimant al limfocitului T, atenuează reacţia de grefă-contra-gazdă, în timp ce Levamisolul, stimulator timic, potenţează acţiunea reglatoare supresivă a limfocitului T asupra sistemului limfoid B. Rezultate similare se pot obţine asociind corticoterapia cu administrarea prelungită de Leucotrofin (extract timic). La administrarea de citostatice se recurge tardiv (29), în cazul transformării sarcomatoase. Se preferă asocierea PDN (1 mg/Kgc/zi) — VCR (1 mg/m² i.v. hebdomadar, fără a depăşi 2 mg doză unică pe zi), sau schema CVP din limfoamele maligne nehodgkiniene.

* * *

B) Imunoblastosarcomul (IS)

Termenul a fost propus de Lennert şi col. la Congresul de la Nayoga (1971), pentru a desemna afecţiunea caracterizată *clinic* printr-un sindrom adeno-spleno-hepatomegalic marcat şi evoluţie rapidă spre exitus; *histopatologic*, prin dezorganizarea structurii ganglionare datorită unei proliferări monomorfe de imunoblaşti de dimensiuni mari, cu aspect malign, care aparţin sistemului limfoid B, neoangiogeneză, şi prezenţa substanţei PAS pozitive intra- şi intercelulare, iar *biologic* (inconstant) prin asocierea unei gammopatii monoclonale, în general de tip IgM. Originea B este afirmată prin studii imunobiologice, asocierea eventuală a hipergammaglobulinemiei şi prezenţa elementelor plasmocitoide (17, 18, 20, 25, 31). Lukes remarcă de asemenea pe secţiuni numeroase celule în necrobioză şi mitoze patologice.

După Lukes şi Collins, sarcomul imunoblastic se dezvoltă brusc în centrii foliculari în următoarele condiţii: ca urmare a unor stimulări antigenice repetate pe un fond de perturbări cronice imune, fie congenitale — ca hipogammaglobulinemia, boala lanţurilor grele alfa, — fie dobîndite, ca LED, purpura anafilactică, sd. Sjögren; la vîrstnici, chiar în afara unor anomalii imunologice perceptibile clinic, dar în

corelație cu involuția timusului ; și consecutiv tratamentului imunosupresiv și citostatic aplicat în diverse hemopatii sau pentru condiționarea transplantelor. IS poate fi primitiv sau poate reprezenta transformarea malignă a LAI.

Imunoblastosarcomul cu celule T, a cărui existență a fost sugerată de Lukes și Collins, este o eventualitate rară. Histologic, în stadiile precoce se constată afectarea preferențială a zonelor ganglionare T, cu persistența foliculilor limfoizi. Ulterior arhitectura ganglionară este dezorganizată în totalitate de proliferarea imunoblaștilor T cu caracter malign. Comparativ cu imunoblaștii B, aceștia sînt de dimensiuni mai mici, cu nucleul neregulat, cromatina fină și citoplasma mai puțin bazofilă. Pe secțiuni nu se întîlnesc imunoblaști cu aspect plasmocitoid (37). Infiltrarea marcată epitelioidă pledează în favoarea originii T a unui IS, sugerînd eventualitatea unor reacții anormale de hipersensibilitate întîrziată în etiopatogenia afecțiunii. Diagnosticul clonal de certitudine se afirmă prin testul rozetelor E. Numărul relativ mic de cazuri raportat în literatură nu permite aprecierea particularităților clinice și evolutive ale IS cu celule T.

În general, debutul imunoblastosarcomului este dramatic, marcat de adenomegalii tumorale, hepato-splenomegalie, febră. IS evoluează spre exitus în 2—3 luni.

Așa cum a fost deja menționat, IS ocupă cea mai mare parte din sfera vechii noțiuni de „reticulosarcom" .

CAZUISTICĂ PROPRIE

În cele ce urmează, expunem opt observații de sindroame limfoproliferative, a căror origine imunologică este semnată în primul rînd de contextul și evoluția lor clinică și care s-au încadrat în trei stadii evolutive de gravitate crescîndă.

A. — Limfadenopatii angioimunoblastice și forme precursoare (5 cazuri)

1. *Tabloul clinic.* Vîrsta pacienților a variat între 30—65 ani (media : 49 ani). A predominat sexul feminin (4 din 5 cazuri). În antecedente se constată atacuri infecțioase, bacteriene sau virale repetate și severe, iar la un caz, și reacții alergice la Efitard. Două observații au evoluat subfebril ; trei, afebril. Manifestarea cea mai constantă au reprezentat-o adenopatiile, de dimensiuni relativ mici (1—3 cm diametru), ferme, neaderente, nedureroase, care în două cazuri au fost generalizate. Splenomegalia, atingînd grd. III—IV, s-a întîlnit la trei din cinci cazuri ; hepatomegalia, moderată, la două cazuri. (Tabel nr. XII și XIII).

2. *Tabloul biologic.* Examenul hematologic relevă leucocitoză 10.000—34.000/mmc, cu limfocitoză periferică 60—84%: la trei din cinci cazuri; bicitopenie la observația nr. 5 (secundară fenomenelor de hipersplenism) și valori hematologice normale la cazul nr. 1. Hiperplazia limfoidă medulară, concordantă cu limfocitoza periferică, s-a întîlnit la cele trei cazuri menționate. Cu excepția

TABELUL XII

Cazuistica personală. LAI — aspecte clinice

Nr.	Nume	Vîrsta	Sex	Atacuri Ag repetate în APP	Adenomegalii	Splenomegalie	Hepatomegalie	Semne generale	Particularităţi
1	J.T.	30	F	+	generalizate periferice	—	—	— subfebril. — erupţie cutanată pap. prurigin.	— adenopatiile ritmează atacurile Ag de 1 an.
2	C.N.	37	F	—	latero-cerv. bilaterale	—	—	—	—
3	C.M.	65	F	+	generaliz. perif. şi mezenterice	grd. II	+	— subfebril. — scădere ponderală	— adenopatiile ritmează atacurile Ag cu 3 ani înainte de diagnostic.
4	P.G.	63	M	+	cervico-axilare	grd. IV	+	— subfebril. — scădere ponderală	—
5	P.E.	50	F	+	axilare	grd. III	—	— astenie, — inapet., — scădere ponderală	— din copilărie episoade infecţioase ritmate de adenopatii locale sau generalizate.

unui singur caz, s-a constatat hipergammaglobulinemie policlonală (la trei cazuri) şi monoclonală (la un caz).

3. *Tabloul morfologic.* a. *Examenul citologic* a relevat proliferare limfoidă polimorfă, cu prezenţa de limfocite, limfoblaşti*, imunoblaşti, plasmocite, cu aspect normal în toate cazurile, uneori şi macrofage, histiocite, celule epitelioide. Intensitatea modulaţiei limfoide a variat de la caz la caz. Elementul celular pre-

*) Aşa cum am arătat (p. 61), noi înţelegem prin limfoblast etapa intermediară de transformare blastică, între limfocit şi imunoblast.

TABELUL XIII

Cazuistica personală — LAI : date de laborator, tratament, evoluție

Nr.	Nume	Val. hematol.	Electrof.	Imunodif.	Citologie	Histopatol.	Trat.	Evol.	Stare prezentă
1	J.T.	GA=17.000/mmc L=68% în sg. L=38% în m. os. cu aspect matur	γ=27 g/l	IgG A M ↑×3↑×4 N	— prolif. polimorfă predomin. Lb, L, Ib, histiocite, macrofage	— prolif. polim., predom. Lb ; - neoangiogeneză ; — s. PAS+	PDN antibiot. Volon	Remisiune completă (RC).	— persistă RC la 2 ani ; VOLON lunar.
2	C.N.	Eozinofile=12%	γ=9,1 g/l	N ↑ ×2 N	— prolif. limf. cu grad moder. de modul., frecv. Ib. fără atipii	— hiperpl. reticulo-limf. ; — neoangiogeneză ; — s. PAS+	PDN VOLON	RC	— persistă RC la 6 luni
3	C.M.	GA=14—34.000 L=80% în sg. și 30% în m. os.	γ=24 g/l	↑×3↑×2 N	— prolif. polimorfă : 25% Ib, 50% Lb de asp. normal ; L., Pl celule epitel.	— prolif. limf. cu intensă modul. Lb, Ib, Pl. — neoangiog. — s.PAS+ — frecv. mitoze	PDN	RC, apoi transf. în IS. Sub PDN și VCR, iarăși RC.	— persistă RC la doi ani de la diagn.
4	P.P.	GA=10.000/mmc L=60% în sg. L=30% în m. os.	γ=37,4g/l	↑×3↑×2 N	— prolif. polimorfă cu intensă modul. Ib. și Pl.	— hiperpl. polim., intensă modul. Ib., asp. normal; — neoangiog. — s. PAS+	PDN	RC	— persistă RC la 1 an.
5	P.E.	GA=2.200/mmc Tr=80 000/mmc	γ=N inițial ; după splenect. 8 g/l	↓1/2 ↓1/2 N	— spl. și ggl. : prolif. limf. Lb(45%) ; Ib=30% L=20%	— prolif. limf. cu modul. Lb și Ib ; neoang. s. PAS+.	— splenect. — PDN	RC 6 luni, apoi IS	

valent a fost imunoblastul (la cazul nr. 2), limfoblastul (în cazul nr. 1,3 și 5 înainte de transformarea sarcomatoasă), plasmocitul și elementele limfoplasmocitare în cazul nr. 4. Aspectul particular al imunoblaștilor, care, deși fără stigmate maligne, atingeau dimensiuni de 40 microni, a sugerat inițial diagnosticul de boală Hodgkin la cazul nr. 2, infirmat prin biopsia ganglionară. b. *Examenul histopatologic* ganglionar a fost efectuat în toate cazurile, iar la pacienta nr. 5 (P.E.), s-a efectuat de asemenea examenul morfologic al splinei. În cazurile 3, 4, 5 s-au găsit cele trei elemente definitorii ale LAI și anume : hiperplazie limfoidă cu modulare imunoblastică și plasmocitară înlocuind arhitectura ganglionară normală, neoangiogeneză și prezența intra- și extracelulară de substanță PAS pozitivă, constatată atît în adenopatiile studiate, cît și în splină (cazul nr. 5). În cazul nr. 3 și 5 s-a produs sarcomatizarea ulterioară. În cazul nr. 1, proliferarea a fost predominant limfoblastică, neoangiogeneza redusă, substanța PAS pozitivă în cantitate mică. Deși clinic și biologic acest caz este analog celorlalte, se observă că, histopatologic, se încadrează mai puțin în conceptul de LAI, el corespunzînd, așa cum vom discuta în continuare, unui stadiu premonitor al acestei afecțiuni. Observația nr. 2, în care elementul predominant a fost imunoblastul, iar structura ganglionară a fost păstrată, se încadrează tot într-un stadiu premonitor.

Tratamentul cu PDN, iar la un caz (nr. 5) splenectomia, a permis obținerea remisiunii complete, cu durata de minimum 6 luni. Patru cazuri se află în remisiune completă la peste doi ani de la diagnostic. Din cele două cazuri cu transformare sarcomatoasă, unul a decedat în decurs de trei luni de la apariția transformării, iar celălalt se află în remisiune completă după două cure de PDN și VCR la doi ani de la diagnosticul de imunoblastosarcom.

B. Imunoblastosarcoame

În afară de cele două cazuri de IS secundar, reprezentînd transformarea sarcomatoasă a LAI, am avut în observație trei cazuri de IS primitive. Caracteristicile acestora, rezumate în tabelul nr. XIV și XV, au fost următoarele: a. *Tabloul clinic* : vîrsta pacienților a variat între 36—73 de ani (media = 58 ani). A predominat sexul feminin două din trei cazuri). În antecedentele tuturor pacienților se remarcă atacuri antigenice infecțioase (bacteriene și virale) și alergice (repetate și severe). Debutul a fost brusc, cu adenomegalii generalizate (două cazuri), spleno-hepatomegalie (trei din trei cazuri) și manifestări generale, de intensitate și aspect clinic variabil, evoluînd însă pe fondul unui sindrom general de impregnație neoplazică. b. *Tabloul biologic*. Examenul hematologic relevă anemie moderată la două din trei cazuri, trombocitopenie (două din trei cazuri), dintre care la un caz, secundară fenomenelor de hipersplenism. Limfocitoza medulară este concordantă cu valorile periferice și a fost constatată într-un singur caz (obs. nr. 8). La toate cele trei cazuri se constată gammopatie monoclonală IgA. c. *Tabloul morfologic*. Aspectul *citologic* ganglionar relevă proliferare lim-

TABELUL XIV

Cazuistica personală. IS — aspecte clinice

Nr.	Nume	Vîrsta	Sex	Atacuri Ag. repetate în APP	Adeno-megalii	Spleno-megalie	Hepato-megalie	Semne g-rale	Particularităţi
6	B.E.	73	F	+	g-raliz.	grd. II	+	— sd. de impregnaţie neoplazică	— infecţii respiratorii frecvente în ultimii doi ani, ritmate de adenopatii l.—c. şi axilare.
7	P.M.	36	F	+	g-raliz.	grd. II	+	— bronhopn. cu implic. renale	— în ultimii trei ani, inf. respiratorii ritm. de adenopatii.
8	C.N.	65	M	+	cervico-axilare	grd. III	+	— sd. hemoragic de intens. medie.	— vitiligo cu 10 ani înainte de dg. — hepatită cr. cu un an înainte de diag.

foidă polimorfă cu predominanţa imunoblaştilor dismorfi (2 cazuri) sau monomorfă, cu imunoblaşti anaplazici (1 caz). La obs. 3 s-a efectuat şi examenul citologic splenic, care a relevat o proliferare limfoidă polimorfă cu predominanţă imunoblastică, aspect similar citologiei limfoganglionare a cazului. Examenul histopatologic ganglionar a relevat proliferarea predominantă sau monomorfă de imunoblaşti anaplazici, uneori asociată cu celule plasmocitoide, frecvente mitoze, neoangiogeneză marcată şi prezenţa de substanţă amorfă PAS pozitivă intra-şi intercelular. La obs. 8, examenul histopatologic al splinei a constatat un proces întins de fibroză.

Tratamentul cu PDN şi VCR a determinat în două cazuri remisiune parţială. La cazul nr. 8 splenectomia a determinat ameliorarea clinică şi biologică netă, cu diminuarea adenomegaliilor şi intensificarea modulării blastice limfoide.

Discuţii:

Observaţiile expuse se prezintă cu unele particularităţi de ordin clinic (obs. 1,2,3,5,6,7,8) şi histopatologic (obs. 1 şi 2, descrise anterior). Clinic, la cinci din cele opt cazuri prezentate (obs. 2, 3, 5, 6, 7) se remarcă un fapt deosebit de semnificativ pentru originea imună, şi anume : *atacurile antigenice* (infecţioase şi alergice) *din antecedente*

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL XV

Cazuistica personală. IS — date de laborator, tratament, evoluție

Nr.	Nume	Val. hematol.	Electrof.	Imunodif. IgG	Imunodif. A	Imunodif. M	Citologie	Histopatologie	Trat.	Evol.+Stare prezentă
6	B.E.	— anemie GR=3.10⁶; Hb=9 g%	γ=23,2 g%	N	↑×8	N	— prolif. polim. limfoidă: 50% Ib; atipici, L; Lb; Pl.	— prolif. Ib, Pl atipici; — neoangiogen. — s. PAS+	PDN	exit după 4 luni
7	P.M.	— anemie, — trombocitop. moderată; GA=24 000/mmc PN=74% uree sg.=0,60 g/l	γ=20 g/l	N	↑×3	N	— spl., ggl.: prolif. Ib. atipici (70%) L, Pl, Lb, cel. epitelioide — frecv. mitoze.	— prolif. Ib. atipici; — neoangiog. — s. PAS+	PDN VCR	R. parțială. Exit după 3 luni.
8	C.N.	GA=4 700/mmc L=60% sg., L=85% m.os. (L., Lb, Ib); — Tr=43 000/mmc — sechestr. spl.=4/1	γ=17,2 g/l	N	↑×2	N	— prolif. monomorfă de Ib. tipici	— prolif. monom. Ib. atipici; — neoangiog. — s. PAS+	PDN VCR — splenect.	remisiune parțială la 1 an.

L=limfocit; Lb=limfoblast; Ib=imunoblast; Pl=plasmocit.

Scanned with OKEN Scanner

au fost ritmate de adenomegalii generalizate, care cedau odată cu vindecarea procesului infecțios sau alergic. Fenomenul, rareori menționat în literatură (6), a apărut fie din copilărie (obs. 5), fie cu 1—3 ani înainte de diagnostic (obs. 2, 3, 6, 7). Este semnificativ în acest context că transformarea sarcomatoasă s-a produs la două din cele trei cazuri cu pusee adenomegalice în antecedente (obs. 3 și 5) și a avut o evoluție rapid letală în cazul existenței perturbărilor imune din copilărie (exitus în 5 luni la cazul nr. 5). La cazul nr. 8, existența perturbărilor imune se reflectă în coexistența a două afecțiuni cu patogenie autoimună: vitiligo și hepatită cronică agresivă (avînd debut cu 10 ani și, respectiv, cu 1 an înainte de dg. de IS). Apariția fenomenelor de hipersplenism sever, care au impus splenectomia, atît în cazul nr. 5, cît și nr. 8, sînt marca perturbărilor imune de durată, element esențial în patogenia limfoproliferărilor.

Astfel, originea imună a celor opt cazuri de limfoproliferări prezentate este susținută de următoarele caractere clinico-anamnestice:

1. existența solicitărilor antigenice repetate din antecedente;
2. ritmarea acestor atacuri antigenice de pusee adenomegalice, cu un număr de ani înainte de constituirea sd. limfoproliferativ de sine stătător;
3. asocierea altor afecțiuni cu patogenie autoimună.

Or, avînd în vedere lipsa de specificitate absolută a modificărilor histopatologice și inconstanța semnelor biologice (26,33), se poate afirma că, cel puțin în stadiul actual al cunoștințelor, *singurul criteriu în măsură să susțină indubitabil originea imună a unui sindrom limfoproliferativ este criteriul clinic*, constînd din episoade antigenice și/sau alergice iterative în antecedente, însoțite eventual de adenomegalii tranzitorii sau coexistența unor afecțiuni autoimune.

—În adevăr, criteriul *morfologic* nu este infailibil, diversele componente histologice ale LAI putînd fi regăsite și în alte circumstanțe patologice. Astfel, hiperplazia vasculară (dilatare și neogeneză de venule postcapilare), prima modificare care atrage în practică atenția asupra LAI (19), poate fi întîlnită (dar într-un grad mai redus) în orice adenopatie inflamatorie, în numeroase adenite reacționale, precum și în orice sarcom, uneori și în boala Hodgkin (10, 16, 19); prezența substanței amorfe PAS pozitive poate fi găsită și în mononucleoza infecțioasă, rubeolă, toxoplasmoză, iar pe de altă parte, ea poate lipsi în unele cazuri de LAI (19); plasmocitoza și limfoplasmocitoza pot fi prezente în orice inflamație limfoganglionară cronică, în general în agresiunile de orice tip (dar în aceste cazuri se însoțește de hiperplazie foliculară marcată, cu păstrarea arhitecturii ganglionare) (19); în sfîrșit, imunoblastul constituie elementul proliferativ central din mononucleoză și toxoplasmoză, fiind întîlnit și în adenitele virale sau alergice postmedi-

camentoase (10, 16, 19) ; pe de altă parte, bazofilia și pironinofilia acestui element limfoid nu indică automat o activitate secretorie, ci arată doar o cantitate ridicată de ARN citoplasmatic, dovadă că și mitogenii pot realiza aspecte asemănătoare (6, 10, 11, 19).

Nici criteriul *biologic* nu este infailibil, el nefiind constant. Diverșii autori găsesc mari discordanțe între datele morfologice și cele imunobiologice. Frizzera găsește o gammopatie policlonală la 10 din 14 bolnavi, pe cînd Lukes și Collins numai la 4 din 14, iar Moore și colab. numai la 3 din 10. Aceste discrepanțe nu se datoresc numai unor eventuale diferențe tehnice. Precum a scos în evidență Lennert, cu cît o celulă limfoidă este mai anaplazică, în aceeași măsură ea își pierde competența funcțională imunosecretorie. Pe de altă parte, limfocitul poate fi atît nesecretor, cît și secretor. În aceste condiții nu ne putem aștepta la un paralelism între proliferarea morfologică și modificările biologice capabile să reflecte activitatea imunosecretantă a unui sindrom limfoproliferativ.

* * *

Integrînd datele clinico-anamnestice și evolutive ale celor opt cazuri observate de noi în revista generală a cazurilor de LAI și IS din literatură, se pot delimita *trei stadii* în evoluția sindroamelor limfoproliferative de origine imună (tabelul XVI) : a) primul, ilustrat de cazul nr. 1, reprezintă un sindrom imunologic de adaptare, o *reacție*

TABELUL XVI

Sd. limfoproliferative imune — stadii evolutive

Stadiul	APP	Aspect clinic	Asp. morfologic				Asp. imunobiol.	Patogenie	
			arhit. ggl.	M.	V.	S.		modif. HC	GVHR
I	atacuri Ag. repetate, eventual ritmate de adenopatii	sd. adeno-splenoheapto-megalic.	păstrată	+ (Lb)	+	+	semnific.	−	−
II			ștearsă, dezorganizată	+ (Ib)	+	+	inconst.	+	+
III			dezorganizată	− (Ib) mg.	+	+	nesemnif.	+	+

M = modulare (în paranteză : tipul celular predominant) ;
V = neoangiogeneză ;
S = substanță PAS pozitivă.
HC = histocompatibilitate ; GVHR = reacția de grefă-contra-gazdă.

imună compensatorie benignă, reversibilă, în care modulația limfoidă apare de tip predominant limfoblastic, cu expresie leucemoidă și disproteinemie importantă, asociată cu adenomegalii generalizate, ritmate de atacuri alergice. Prin analogie, acest sindrom limfoproliferativ poate fi considerat ca LIMFADENOPATIE IMUNĂ LIMFOBLASTICĂ și pare să fie stadiul premergător al LAI (fig. 16, 17, 18). Caracterul principal al acestei limfoproliferări este activitatea imunologică marcată a elementelor limfoide, care, nefiind anaplazice, își păstrează capacitatea funcțională. Cazul nr. 2, la care apar imunoblaști pe fondul proliferării limfoide, fără să existe totuși o modulare intensă imunoblastică și plasmocitară, reprezintă faza de trecere între acest stadiu și următorul; b) al doilea stadiu al sd. limfoproliferativ de origine imună este *limfadenopatia angioimunoblastică* (cazurile 3, 4, 5). Populația limfoidă este polimorfă, cu o modulare foarte activă, în special imunoblastică, (fig. 19, 20, 21), dar modificările imuno-biologice sînt inconstante și nu totdeauna semnificative, ceea ce denotă că perturbarea funcțională a celulelor limfoide modulate s-a produs deja. LAI constituie de asemenea un proces reactiv, netumoral, dar cu potențialități de transformare malignă;

c) transformarea neoplazică, adică *sarcomul imunoblastic*, este al treilea stadiu în evoluția sd. limfoproliferativ de origine imună (cazurile 6, 7, 8). Modulația limfoidă apare de data aceasta „înghețată" (blocată) la nivel de imunoblast. Morfologia este monomorfă sau slab polimorfă, aspectul celular este anaplazic, cu un număr crescut de mitoze, care reflectă proliferarea neoplazică (fig. 22, 23, 24, 25). Modificările imunobiologice sînt inconstante, adesea nesemnificative, ca rezultat al incompetenței funcționale a sistemului limfoid B, modificat prin procesul de malignizare. Pe fondul „preparat", reprezentat de primele două stadii evolutive, repetarea atacurilor antigenice poate duce astfel la dezvoltarea imunoblastosarcomului.

În contextul datelor actuale, apariția sd. limfoproliferativ de origine imună poate fi explicată patogenic astfel (fig. 26):

a) în *primul stadiu*, adaptativ, hiperproliferarea imună a sistemului B ar putea fi explicată printr-o stare deficitară intrinsecă a acestui sistem, prezentă la unii indivizi, sau unui deficit al controlului exercitat de sistemul T asupra celulelor B. Răspunsul reactiv exagerat al sistemului B se reflectă în hipertrofii ale organelor limfoide (ggl., splină), proliferare intensă, uneori cu leucemizare. Celulele B rămînînd normale funcțional, modificările imunobiologice sînt foarte nete, ar procesul este reversibil și încă nu se constată apariția reacției de grefă-contra-gazdă (GVH);

b) în *stadiul al doilea* (LAI), modificarea structurii de histocompatibilitate a celulelor B consecutiv atacurilor antigenice repetate de-

termină ieșirea acestor celule de sub controlul sistemului T, cu proliferare excesivă de celule B, parțial normale, parțial alterate funcțional. Rezultă că sistemul B lucrează parțial eficient, prin celulele imu-

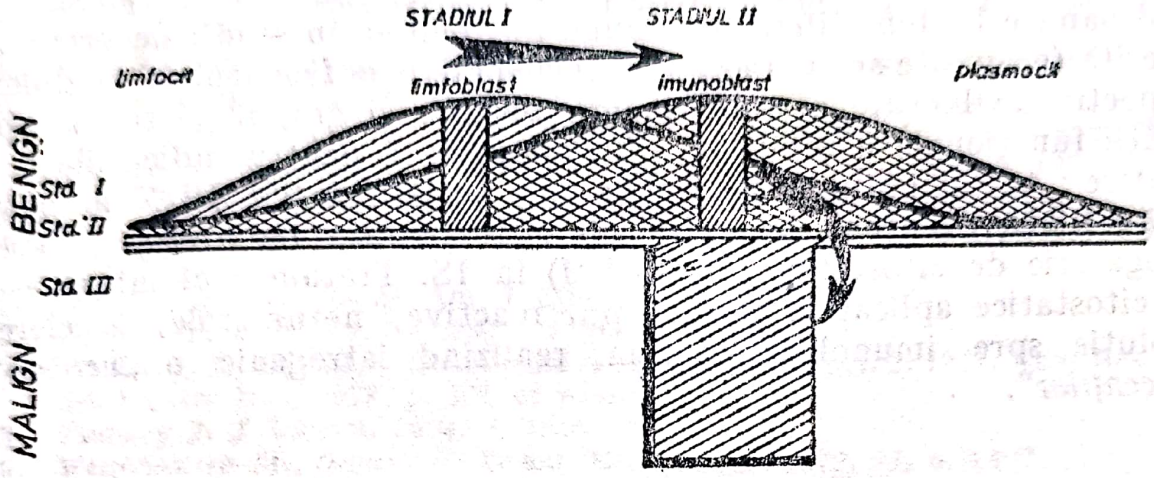


Fig. 26
Sd. limfoproliferative imune — evoluția stadială ; (aspect citologic).

nocompetente, parțial ineficient, în gol, prin modulare de celule incompetente imunologic. Astfel se explică inconstanța semnelor imunobiologice. Modificările de histocompatibilitate au încă două consecințe : 1. reacția de grefă-contra-gazdă, care agravează modificările funcționale ale limfocitului, închizînd cercul vicios ; 2. alterarea comportamentului populației celulare, explicînd potențialul de transformare malignă a LAI ;

c) în *stadiul al treilea*, stimularea antigenică de lungă durată pe un fond disimun determină mutația oncogenă a unei clone din sistemul B cu blocarea transformării blastice la nivel de imunoblast și proliferare anarhică a clonei respective, cu constituirea IS.

Apariția LAI și IS cu celule T poate fi explicată prin faptul că anumite antigene determină prin natura lor numai stimularea sistemului T. Repetarea atacurilor antigenice de același tip cu modificarea structurii de histocompatibilitate a limfocitului T determină atît reacția de GVH (limfocit T modificat contra structurii antigenice a propriului organism) cît și perturbarea interacțiunii T—T cu proliferarea necontrolată și parțial ineficientă a fracțiunii celulare efectoare a sistemului T (13).

În concluzie, dacă introducerea conceptului funcțional, imunologic, în interpretarea sd. limfoproliferative a modificat profund înțelegerea acestui grup de afecțiuni, aplicarea acestui concept la o sferă prea largă de limfoproliferări riscă să-l facă prea indefinit. Din acest motiv și avînd în vedere inconstanța criteriului biologic și lipsa unei specificități absolute a criteriilor morfologice, pînă la găsirea unor cri-

terii paraclinice mai certe, noțiunea de „*sindrom limfoproliferativ imun*" ar trebui aplicată numai cazurilor în care intervenția unui factor imunologic este certă pe plan *clinic*, iar elementele morfologice și eventual biologice sînt concordante. Pe de altă parte, cunoașterea faptului că sindroamele limfoproliferative imune pot evolua în stadii de gravitate diferită (gravitate semnată de două elemente : coeficientul de modulare, respectiv de blocare a transformării blastice și gradul păstrării capacității funcționale a celulelor) este importantă pentru indicațiile terapeutice : tratamentul antiinfecțios sau antialergic cu PDN în prima fază ; PDN, eventual levamisol ± VCR în faza de LAI și asociere obligatorie de citostatice (VCR,CPM) în IS. Tratamentul intempestiv cu citostatice aplicat în stadiile pur reactive, netumorale, accelerează evoluția spre imunoblastosarcom, realizînd iatrogenic o „*ucidere a inocenților*".

BIBLIOGRAFIE

1. *Bensa J. C., Faure J., Marti H. et al.* Lancet, 1976, *I*, 7968, p. 1081.
2. *Bornkamm G. W., Stein H., Lennert K. et al.* Int. J. Cancer, 1976, *17*, 177.
3. *Burke J. S., Butler J. J.* Am. J. Clin. Path., 1976, *66*, 1.
4. *Chelloul N., Veyssier P., Philippe J.—M. et al.* Sem. Hôp. Paris, 1977, *53*, 16, p. 923.
5. *Ciobanu V., Zălaru M. C., Șuțeanu St. et al.* Med. Int. (București), 1971, *23*, 3, p. 341.
6. *Delsol G., Familiades J., Voigt J. J. et al.* Ann. Anat. Path. (Paris), 1977, *22*, 1, p. 41.
7. *Ellegaard J., Boesen A. M.* Scand. J. Hematol., 1976, *17*, 36.
8. *Fernandez R. J. M., Fernandez J. P., Prados D. M., et al.* Sangre, 1976, *21*, 1, p. 187.
9. *Flandrin G., Daniel M. T., El Yafi G. Sarcomatoses ganglionnaires diffuses à différenciation plasmocytaires avec anémie hémolytique autoimmune.* Actual. Hématol., 1972, *6*, p. 25.
10. *Flandrin G.* Nouv. Presse Méd., 1976, *5*, 1521.
11. *Frizzera G., Moran E. M., Rappaport H.* Lancet, 1974, *1*, p. 1070.
12. *Graham R. C.* Lancet, 1974, *2*, p. 666.
13. *Greaves M. F., Owen J. T., Raff M. C. T and B Lymphocytes : Origins, Properties and Roles in Immune Responses.* Exc. Med. Amsterdam, American Elsevier Publ. Co., Inc., New York, pp. 168—69 et pass. 1974.
14. *Kalus M. J.* Arch. Pathol. Lab. Med., 1976, *100*, 465.
15. *Lennert K., Stein H., Kaiserling E.* Br. J. Cancer, 1975, *31* Suppl., p. 29.
16. *Lifshitz G. A., Burton L. P., Ariza C. A.* Prensa Med. Mex., 1976, *41*, 9—10, p. 323.
17. *Lukes R. J., Tindle B. H.* Ntl. Cancer Inst., 1973, Jan., p. 26.
17b. *Lukes R. J., Tindle B. H.* New Engl. J. Med., 1975, *292*, 1, p. 1.
18. *Lukes R. J., Collins R. D.* Cancer, 1974, *34*, p. 1488.
19. *Mascarel A.* Bord. Méd. 1978, *11*, 587.
20. *Mathé G., Rappaport H. Classification histologique des maladies néoplasiques des tissus hématopoïétiques et lymphoïdes.* OMS, Génève, 1976, no. 14.
21. *Meyer A., Flandrin G.* Nouv. Presse Méd., 1977, *2*, 121.
22. *Moore B. S., Harrison E. G., Weiland L. H.* Mayo Clin. Proc., 1976, *51*, 273.
23. *Myers T. J., Cole S. R., Pastuszak W. T.* Cancer, 1978, *40*, p. 266.
24. *Palutke M., Khilnani P., Weise R.* Am. J. Clim. Pathol., 1976, *65*, 929.
25. *Pardo-Peret P.* Ann. Med. (Barcelona), 1976, *5*, p. 743.

Scanned with OKEN Scanner

26. *Popa G., Dobrescu G., Iordăcheanu L., Hanganu E. et al.* IInd Natl. Congress of Normal and Pathological Morphology, București, 1977, p. 237.
27. *Preud'homme J.—L. Les sarcomatoses plasmocytaires diffuses: II. Anomalies immunologiques.* Actual. Hématol. 1972, *6*, p. 42.
28. *Pruzanski W., Sutton D. M. C., Pantalony D.* Clin. Immunol. Immunopathol. 1976, *6*, 62.
29. *Radaskiewicz T., Lennert K.* Dtsch. Med. Wschr. 1975, 100, *21*, p. 1157.
30. *Rappaport H., Moran E. M.* New Engl. J. Med., 1975, *292*, p. 42.
31. *Schaeffer A., Lejeune J. L., Reyes F. et al.* Ann. Méd. Int., 1975, *126*, 5, p. 355.
32. *Sébahoun G., Gratecos N., Foa J. et al.* Nouv. Presse Méd., 1975, 5, 197.
33. *Simu G.* Rev. Roum. Morphol. Embryol. Physiol. 1978, *24*, 1, p. 41.
34. *Șerban Al., Florescu P., Ivanciuc I. et al.* Rev. Roum. Morphol. Embryol. Physiol., 1977, *23*, 1, p. 49.
35. *Valdes A. J., Blair O. M.* Am. J. Clin. Pathol., 1976, *66*, 551.
36. *Tangun Y. et al.* Lancet, 1974, *I*, p. 1345.
37. *Taylor C. R. Hodgkin's Disease and the Lymphomas.* Vol. 2, 1977, Ann. Res. Rev., Eden Press Inc., 1978, p. 255 et pass.
38. *Twomey J. J.* Lancet, 1974, *I*, 1345.
39. *Westerhausen M., Oehlert W.* Dtsch. Med. Wschr. 1972, *97*, p. 1407.

Scanned with OKEN Scanner

Particularităţi ale sindroamelor limfoproliferative la bătrîni

de G. Popa şi Mioara Popa

Un aspect particular al implicaţiilor clinice din imunopatologia sistemului limfoid este cel al afecţiunilor limfoproliferative la bătrîni.

Există o deosebire frapantă între aspectul clinic şi evolutiv al unor sindroame limfoproliferative „maligne" ale bătrînilor, mai ales cele leucemizate, comportînd elemente imature şi anaplazice — şi aceleaşi afecţiuni la vîrste mai tinere.

Astfel, analiza comparativă pe un număr de 19 cazuri de sarcoame limfoblastice leucemizate (leucosarcomatoză Sternberg), dintre care 7 cazuri avînd vîrsta peste 60 de ani, relevă deosebiri nete în configuraţia clinică şi evolutivă a afecţiunii :

a) durata bolii a fost în medie de 8 luni (cu extreme între 3 şi 14 luni) la tineri, iar la bătrîni media supravieţuirii a fost de 40 de luni, extremele variind între 2 şi 6 ani ;

b) spre deosebire de tineri, la care leucosarcomatoza evoluează cu stare gravă şi febră ridicată, bătrînii păstrează starea generală relativ bună, iar febra lipseşte sau este înlocuită cu rare subfebrilităţi ;

c) acest aspect clinic se află în discordanţă cu tabloul hematologic, care comportă deseori o hiperleucocitoză foarte ridicată, cu un mare procent de celule „sarcomatoase" în leucogramă (peste 50—60%) şi în mielogramă (în jur de 90%). Celulele sarcomatoase aveau aspect de „microlimfoblast", mai rar de limfoblast, dar prezentînd dismorfii nucleare (ancoşări, incizuri, deformări, convolutări, 1—2 nucleoli mari, inegali) ; se mai observă că numărul de celule leucemice în sîngele periferic şi măduva osoasă este în general mai ridicat la bătrîni, ajungînd la un caz pînă la valori de 700 000/mmc ;

d) un caracter diferenţial important constă de asemenea în faptul că reacţia paraneoplazică a celulelor medulare autohtone (anomalii nucleolare ale seriei granulocitare tinere, tendinţa spre macroblastoză a seriei roşii) întîlnită frecvent în leucosarcomatoza tinerilor, apare numai sporadic la bătrîni ;

e) cît priveşte aspectul morfologic al celulelor, cel puţin la microscopia optică obişnuită, nu se constată deosebiri foarte nete în tabloul atipiilor celulare ; se observă numai o structură cromatiniană mai fină în celulele leucosarcomatoase ale tinerilor ; de remarcat însă

la bătrîni un mare procent de elemente limfoide de însoțire, fără stigmate maligne (limfocite, limfoplasmocite, „limfomonocite") ;

f) limfosarcomul leucemizat la bătrîni este refractar și răspunde foarte inegal atît la citostatice cît și la corticoizi, administrate izolat sau asociat ; o indicație utilă o are roentgenterapia pentru cazurile la care tumora ganglionară sau splenică exercită compresiuni ; în rest, bătrînii cu leucosarcomatoză pot tolera ani de zile hiperleucocitoze de peste 200 000/mmc.

La fel de semnificativă este existența la bătrîni a unor *leucemii limfoblastice cu evoluție cronică*, entitate nosologică asupra căreia a atras atenția recent Undritz (3).

Am avut ocazia să observăm și noi 4 cazuri de leucemie limfoblastică cronică la vîrste înaintate (56, 60, 65 și, respectiv, 72 de ani în momentul internării).

La unul din cazuri, o femeie care consumase în timp de 11 ani aproximativ 450 g cloramfenicol, leucemia limfoblastică a fost pur medulară. Bolnava se află în observație, evoluînd de peste 6 ani.

Al doilea caz a evoluat timp de peste 6 ani, avînd elemente limfoblastice cu intensă poliploidie. La al treilea caz evoluția a durat timp de 7 ani. Al patrulea bolnav se află în observație de peste un an.

Toate cazurile au evoluat afebril și cu stare generală relativ păstrată. Elementele blastice din sîngele periferic au oscilat între 30 și 90%, cele medulare s-au menținut la două cazuri peste 60%, iar la celelalte două în jur de 90%. Și acești bolnavi s-au arătat refractari la citostatice. S-au produs numai scăderi parțiale ale procentului de limfoblaști sub prednison.

* * *

Care ar putea fi explicația acestei evoluții lente, cu simptomatologie redusă, a sindroamelor limfoproliferative discutate mai sus? Corespund ele în adevăr unor procese maligne, cel puțin în prima lor perioadă?

Următoarele fapte ar putea constitui premisele unei interpretări:

1. S-a constatat la bolnavii cu deficiențe imunitare genetice o mai mare incidență de neoplazii, mai ales de natură limfoproliferativă, inclusiv leucemii și boala Hodgkin. Or, dacă imunodeficiența explică frecvența mare a neoplaziilor în general, nu există explicație satisfăcătoare pentru prevalența cu mult superioară a afecțiunilor maligne limfoide (5).

2. Numeroși autori au semnalat creșterea incidenței de autoanticorpi, pe măsură ce crește vîrsta (1, 2, 4). Faptul a fost pus în legătură cu involuția senilă a timusului, acesta pierzîndu-și astfel controlul asupra procesului de apărare în două sensuri :

Scanned with OKEN Scanner

— pe de o parte, scăderea limfocitelor de tip T antrenează o creștere a numărului de imunocite autocodificate, adică de limfocite B, de a căror membrană este legată imunoglobulina ; se produce un exces numeric de limfocite B ; histologic, se constată în diverse organe o creștere cu vîrsta a frecvenței infiltrației limfocitare și plasmocitare ;

— pe de altă parte, calitatea acestor limfocite privind sinteza de imunoglobulină este ineficientă la bătrîni, constatîndu-se un răspuns umoral scăzut, atît primar cît și secundar, împotriva antigenilor extrinseci.

Prin urmare, atrofia timusului face ca organismul să-și piardă funcția de a elibera clone de imunocite eficiente față de antigene noi. Datorită incompetenței timice, *se produce pe de o parte o multiplicare necontrolată de limfocite, iar pe de altă parte o ineficiență sau o eficiență redusă a acestor imunocite* (2, 5, 6).

Or, ce constatăm la sindroamele limfoproliferative semnalate mai sus? O enormă proliferare intramedulară de elemente limfoide, cu procente oscilînd în jur de 60—90% din mielogramă, foarte semnificativ fiind în acest sens cazul cu leucemia limfoblastică pur medulară. Este deci vorba de proliferări de limfocite B.

Astfel, în context cu datele amintite, ni se pare logic să admitem că unele afecțiuni limfoproliferative ale bătrînilor sînt de fapt proliferări pseudomaligne, și anume expresia unui răspuns imunitar inadecvat, *a unei apărări ineficace* față de diverse infecții bacteriene sau virale. În modul acesta se explică benignitatea lor relativă. De obicei acești bolnavi nu se pierd prin intoxicație neoplazică, ci datorită substituirii progresive a măduvei hematogene de către proliferarea elementelor limfoide, sau prin infecții pulmonare grave, consecutive disfuncției imunologice a limfocitelor.

Dar, după ani de zile, la un moment dat, consecutiv stimulărilor antigenice cronice de către infecții repetate, în condițiile scăderii imunosupravegherii dependente de timus, această proliferare a sistemului limfoid reprezentînd inițial un proces imunologic avortat, este susceptibilă de a se transforma în veritabilă neoplazie malignă. Este așa-numita comutare („switch on") oncogenă de care vorbește Lukes (fig. 27).

Ipoteza că un procent important dintre afecțiunile limfoproliferative ale bătrînului ar putea să corespundă în realitate unui proces de apărare lucrînd în gol și pasibil să devină veritabilă neoplazie malignă doar după un timp îndelungat de evoluție, explică insuccesul tratamentelor citostatice precum și pericolul corticoizilor (prin paralizarea apărării), fapt subliniat și de Undritz pe cazurile sale de leucemie limfoblastică cronică a bătrînilor. În stadiul cunoștințelor noastre de moment este dificil de a fixa o atitudine terapeutică precisă și de a spune în ce măsură nu este preferabil să respectăm evoluția spontană a afecțiu-

Scanned with OKEN Scanner

nilor limfoproliferative la bătrîni, atît timp cît această evoluție nu capătă un caracter evolutiv malign. Ceea ce se poate încerca este tratamentul imunologic cu extract timic sau cu levamisol, care ar trebui,

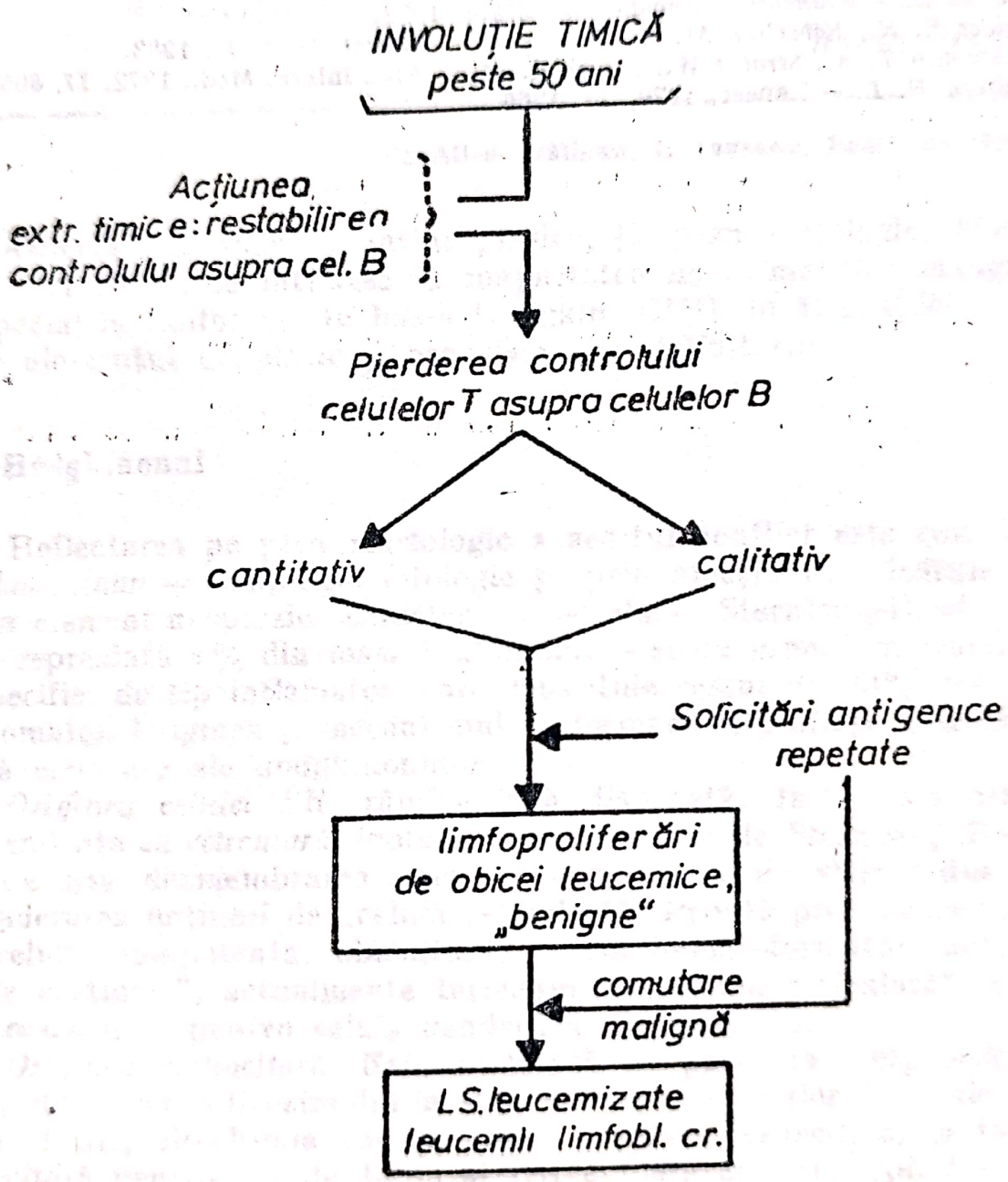


Fig. 27
Patogenia unor sindroame limfoproliferative ale bătrînilor

cel puțin teoretic, să influențeze favorabil aceste afecțiuni, prin restabilirea controlului timic asupra celulelor B.

BIBLIOGRAFIE

1. *Burnet M.* — Triangle, 1973, *4*, 159.
2. *Prieto Valtuena.* — J. Biomedicine, 1973, *19*, 301.
3. *Undritz E.* — *Planches d'Hématologie*, Bâle, 1972.
4. *Walder B. K., Robertson M. R., Jeremy D.* — Lancet, 1971, *11*, 1283.
5. *Waldmann T. A., Straber W., Blaese R. M.* — Ann. intern. Med., 1972, *77*, 605.
6. *Walford R. L.* — Lancet, 1970, *11*, 1266.

Scanned with OKEN Scanner

Corelaţii morfologice, imunologice şi prognostice în boala Hodgkin

de Alice Brătianu, I. Tansanu, Ecaterina Hanganu

Aspecte ale apărării antineoplazice, pe plan histologic, biologic, uneori şi clinic, se întîlnesc în majoritatea neoformaţiilor maligne şi în special în limfoame. În boala Hodgkin (BH) însă, conflictul imun între elementul neoplazic şi organism este definitoriu.

Hodgkinonul

Reflectarea pe plan morfologic a acestui conflict este constituită de *hodgkinon* — complexul citologic propriu afecţiunii, alcătuit dintr-un element neoplazic caracteristic — celula Sternberg-Reed (SR), care reprezintă 1% din masa limfomului — şi un granulom reacţional, nespecific, de tip inflamator, care constituie restul de 99% din masa limfomului. Originea şi mecanismul de formare este diferit pentru cele două elemente ale hodgkinonului.

Originea celulei SR rămîne încă disputată. Iniţial s-a afirmat descendenţa sa *reticulară*, ipoteză formulată încă de Sternberg. Precum se ştie însă, dezmembrarea recentă a conceptului de SRH a dus la reconsiderarea noţiunii de „celulă reticulară". Privită pînă de curînd ca o „celulă omnipotentă, ubicuitară, cu rol hematoformator, antixenic şi de susţinere", actualmente termenul de „celulă reticulară" se mai păstrează doar pentru celula dendritică din ganglion.

Originea histiocitară. Este susţinută de prezenţa receptorilor Fc şi C_3, de prezenţa lizozimului în supernatantul culturilor de celule Hodgkin şi SR, citochimia caracteristică (esteraza nespecifică) şi funcţia fagocitară pentru tuş de India şi GR cuplate cu anticorpi. Dar: receptorii Fc şi C_3 sînt comuni pentru limfocit şi monocit; celulele SR erau asociate frecvent în culturi cu macrofage, deci originea lizozimului din supernatant este îndoielnică; esteraza nespecifică a fost pozitivă numai la 30% din celule şi atunci sub aspect focal, întîlnit şi în elementele de origine limfocitară, iar funcţia fagocitară caracterizează în general elementele maligne, indiferent de originea lor; de asemenea, limfocitele normale pot realiza în culturi de 24 h figuri de fagocitoză similare celor observate în culturile de celule Hodgkin şi SR. Un argument

care pledează în favoarea originii histio-monocitare a celulei SR este faptul că, în cursul reacțiilor imune, macrofagele tinere anihilează macrofagul matur, devenit *non-self* în urma impactului antigenic, prin contopire cu acesta. Polikarionul rezultat este incapabil să se dividă, degenerează și dispare (30). Perturbarea acestui proces ar explica deopotrivă apariția celulei SR, cu caracter net malign, cît și a granulomului, secundar încercării de cooperare imună indusă de monokinele eliberate de celula SR. Faptul că elementele granulomului, cel puțin în parte, nu au rol citotoxic, ar fi sugerat de aglomerările de limfocite T în jurul celulelor SR, observat în culturi de celule și care persistă peste 40 de zile fără alterarea elementului central (22). Și aceste argumente sînt însă discutabile, pentru că : a. morfologic, polikarionul rezultat din contopirea macrofagelor seamănă cu celula Langhans și nu cu SR ; b. în boala Hodgkin (BH), apărarea celulară fiind perturbată, intenția aglomerării de limfocite T în jurul celulei SR poate fi citotoxică, dar nu se rea izează datorită defectului intrinsec.

Originea limfocitară, posibil B, a celulei SR este susținută de : 1. aspectul morfologic : nucleul celulei Hodgkin este similar imunoblastului sau celulei blastice obținută *in vitro* prin stimulare cu mitogeni ; Lukes afirmă de altfel că : „celula SR reprezintă expresia poliploidă a limfocitelor transformate sau a imunoblaștilor" ; 2. studiile de cinetică celulară au demonstrat existența unui *turn-over* limfocitar rapid, astfel încît celula Hodgkin și celula SR pot fi considerate „deșeurile" apărute în cursul limfopoezei cantitativ crescute, dar deficitară calitativ ; 3. aspectul funcțional : celula SR, considerată inertă, este în realitate sediul unei sinteze intense de proteine. În citoplasma sa s-au evidențiat lanțuri ușoare de Ig, tip kappa sau lambda. Prezența ambelor tipuri de lanțuri, constatată uneori în aceeași celulă, nu este un argument contra originii autohtone, ci reflectă dereglarea sintezei proteice în cadrul transformării maligne (22, 27).

S-a sugerat de asemenea originea T a celulei SR, contra căreia pledează însă prezența Ig în citoplasmă. Sinkovics și Schulenberg (1975) au încercat concilierea celor două opinii (26), susținînd că celula SR rezultă din fuziunea limfocitului T și B, în care limfocitul T este forma neoplazică, virusul Epstein-Barr fiind implicat în producerea sa. Autorii au neglijat însă un element esențial : limfocitul B este singurul care prezintă receptori pentru EBV, deci care poate fi infectat și activat de virus.

Originea limfocitară B pare cea mai plauzibilă în contextul datelor actuale. Confuzia care se făcea altădată, considerîndu-se imunoblastul drept „celulă reticulară", explică actualmente în bună parte vechea ipoteză a originii reticulare a celulei SR.

Scanned with OKEN Scanner

Spre deosebire de elementul neoplazic specific bolii Hodgkin, *granulomul* prezintă caracter reactiv, de tip inflamator, nespecific. Este alcătuit din limfocite, plasmocite, monocite, PN, PE, PB, histiocite, fibroblaști — celule cu aspect normal, dar în proporție variabilă, în funcție de momentul evolutiv al conflictului imun. S-a emis ipoteza că granulomul apare secundar încercării de cooperare imună cu celula SR, capabilă să secrete mono- sau limfokine (în funcție de originea eventual acceptată). Faptul că formarea sa este expresia reacției antineoplazice și nu a cooperării cu elementul neoplazic central, este relevat de importanța *prognostică* a conținutului său în limfocite. Prezența celulelor *epitelioide* (macrofage cu funcție pur secretorie) pledează de asemenea pentru caracterul reactiv al granulomului și cooperarea între elementele sale (în cazul de față — limfocite și monocite) împotriva celulei SR.

Deficitul imunitar

Studiile de imunologie experimentală și clinică au confirmat deficitul apărării celulare în BH, deci a sistemului imunitar timodependent, constînd din :

1. scăderea scorului rozetelor E ;
2. reducerea răspunsului mitogen la stimularea cu PHA, PWM în doze mari, ConA și limfocite histoincompatibile ;

In vivo, alterarea imunității celulare se manifestă prin :

3. negativarea reacției de hipersensibilitate întîrziată la o serie de antigene (tuberculină, candidină, tricofitină, antigenul de parotidită epidemică) precum și față de substanțe alergizante (2,4 DNCB ; 2,4 DNFB) ;
4. perturbarea reacției de transfer limfocitar ;
5. întîrzierea eliminării, eventual toleranță completă a homografelor cutanate și transplantelor de măduvă hematogenă.

Datele din literatură privind aceste diverse disfuncții imunitare sînt însă contradictorii.

1. Contrar consensului general privind reducerea *scorului rozetelor E*, cu creșterea concomitentă a limfocitelor SIg pozitive (B), Gajl-Peczalska și col. (9), raportează în 1976, într-un studiu pe 50 de pacienți cu BH netratată, existența unui procent normal de limfocite T și B în sîngele periferic la $>77\%$ din cazuri, iar în ganglionii implicați, la $>60\%$ din cazuri. După radioterapie, autorii constată creșterea numărului de limfocite B, dar cu menținerea în limite normale a scorului și nr. absolut de limfocite T. Payne și col. (23), studiind 24 de pacienți cu BH netratată, decelează scoruri crescute de rozete E în ganglionii

afectați și în splina normală. La cazurile cu afectare splenică, scorul rozetelor E coboară spre valori normale. La >25% din cazuri însă, suma rozetelor E și a limfocitelor SIg pozitive depășea *120%*, datorită, probabil, existenței unui procent de limfocite T purtînd IgG pe suprafață (posibil, autoanticorpi).

2. *Transformarea blastică la PHA și în culturi mixte de limfocite este scăzută în BH.* Faguet (6) a încercat stadializarea deficitului imun în corelație cu aspectul clinic și prognostic al bolii, dar rezultatele nu au fost confirmate de alți autori. Datele asupra concordanței deficitului imun apreciat prin stimulare cu mitogeni, MLC (cultură mixtă limfocitară) și testarea hipersensibilității întîrziate *in vivo* sînt de asemenea contradictorii. Graze și col. (11) raportează diminuarea răspunsului atît la PHA, cît și la MLC, concomitent cu instalarea anergiei cutanate. Totuși, la cazurile în care testele cutanate sînt pozitive, răspunsul la MLC este normal, în timp ce stimularea cu PHA este diminuată semnificativ, ceea ce permite supoziția că reacția cu PHA și MLC definesc subpopulații separate de limfocite T. Kaplan (15) explică diminuarea reactivității la PHA printr-un defect de membrană a unei fracțiuni a limfocitelor T. Prin același defect membranar, aceste limfocite ar pierde de asemenea capacitatea formării de rozete spontane (E), astfel încît, scăderea scorului de rozete E ar fi expresia unui defect funcțional, dovadă stînd faptul că acest scor este rectificat după incubarea limfocitelor T cu levamisol, agent imunostimulant.

3. *Anergia tuberculinică*, precum și la alte antigene și substanțe alergizante, apare la aproximativ două luni de la debutul clinic al afecțiunii și dispare în perioadele de remisiune. Anergia cutanată depinde de : a. *stadiul clinic* al bolii : Brown, Young și col. (2) au constatat în std. I reacții normale de hipersensibilitate la majoritatea pacienților, spre deosebire de std. II—IV, la care se instala progresiv anergia. Deficitul apărării celulare este consecința și nu cauza afecțiunii, afirmație esențială pentru patogenia BH. Aplicînd concentrații diferite de DNCB (0,5% în loc de 2%), Kaplan a demonstrat însă existența anergiei la 73—77% din cazurile aflate în std. I, sugerînd existența unui grad de perturbare a imunității celulare chiar atunci cînd boala pare localizată (16). Așa cum afirmă unii autori (27), deficitul imunității celulare se poate constata *ab initio* în BH, dacă se utilizează suficienți parametri (rozete E, PHA, ConA, PWM, testele cutanate) ; b. *stadiul histologic* : formele cu depleție limfocitară evoluează cu anergie cutanată (80% din cazurile cu anergie studiate de Brown și col. prezentau 1 500 limfocite/mmc) ; c. *antecedentele patologice* ale pacientului. Testele cutanate de hipersensibilitate întîrziată au valoare numai dacă există certitudinea contactului cu antigenul, anterior declanșării BH. Datele anamnestice fiind adeseori îndoielnice, se preferă *in vivo*

Scanned with OKEN Scanner

aprecierea imunității celulare prin provocarea dermitei de contact cu substanțe alergizante (DNCB, DNFB) în locul antigenelor clasice, bacteriene și micotice ; d. *tratament* : efectele puternic imunodepresoare ale chimio- și radioterapiei durează cel puțin cinci ani, în condițiile obținerii remisiunii complete.

4. Încercarea de *transfer* a alergiei tuberculinice prin limfocite provenind de la persoane sănătoase, IDR-pozitive, a eșuat constant, în timp ce administrarea de factor de transfer limfocitar este urmată de pozitivarea reacției la pacienții cu BH. Fenomenul se poate explica prin prezența factorului blocant și/sau a anticorpilor antilimfocit T.

5. *Toleranța* homografelor cutanate este un fapt unanim observat. La 2 din cei 13 pacienți studiați de Kelly și col. (17), homografele au fost tolerate timp indefinit, iar la 8 cazuri, eliminarea a fost mult prelungită (pînă la 1—3 luni). Transplantul de măduvă hematogenă este de asemenea tolerat, iar uneori, după transfuzii efectuate la pacienți în std. III—IV, se constituie himere hematologice.

În cursul BH, *apărarea umorală* este puțin afectată. Se pare chiar, că există o hiperactivitate reacțională a limfocitelor B (Lang, 1976) (18), fapt atestat nu numai de bogăția în limfocite a leziunilor specifice, dar și de : a. apariția de adenomegalii sau splenomegalie consecutive unor limfoproliferări pur reacționale, fără leziuni hodgkiniene și cu regresare spontană (24) ; b. prezența în sîngele pacienților cu BH a unor celule limfoide aflate în modulare activă (limfocite, imunoblaști, plasmocite), ca răspuns la stimularea antigenică ; c. sintetizarea de către splină și ganglioni a imunoglobulinelor G (IgG), cu efect citotoxic asupra limfocitelor T.

Au fost descrise și alte anomalii funcționale ale limfocitului în BH : un deficit de producere de interferon și de limfotoxină ; un deficit al activității citotoxice. În stadiile tardive sau preterminale, uneori și după tratament intensiv, se constată scăderea moderată a tuturor claselor de imunoglobuline. Sinteza de anticorpi nu este deprimată dacă primul contact cu antigenul a avut loc înainte de declanșarea bolii, dar poate fi redusă dacă acesta s-a produs ulterior.

Există așadar un consens general privind perturbarea imunității celulare în BH, iar controversele se referă în special la forma de manifestare, intensitate, cauza și semnificația sa patogenică.

Pentru explicarea deficitului apărării celulare, *i.e.* a sistemului limfoid T, s-au emis următoarele ipoteze :

I. Scăderea *reală* a capacității funcționale a sistemului T, prin : a. *hipofuncție timică*, înnăscută sau dobîndită ; b. *tulburări de recirculație limfocitară*, fenomen observat în stadiile tardive, cu afectare ganglionară marcată ; c. secundar *perturbării funcției limfocitului* B. În serul pacienților cu BH s-a pus în evidență un factor inhibitor al

transformării blastice. Cultivarea limfocitelor normale în ser provenind de la pacienți cu BH determină absența transformării blastice în cursul stimulării cu mitogeni sau antigene specifice. Același fenomen se produce prin folosirea serului bolnavilor cu diferite neoplazii maligne. Factorul *blocant* poate fi îndepărtat prin spălare, digestie cu brinază, streptokinază, tratament cu levamisol sau învechire. Cultivarea limfocitelor pacienților cu BH în mediu fără ser propriu sau cu ser tratat în maniera menționată, determină normalizarea scorului rozetelor E. Precum am mai amintit înainte, ar exista concomitent un deficit calitativ și/sau cantitativ al *receptorilor* membranari prin care acționează stimulii antigenici (18).

În serul pacienților cu BH s-a demonstrat de asemenea existența unui *anticorp citotoxic anti-T*. Nu se poate afirma identitatea sau corelația sa cu factorul blocant. Nu se poate aprecia cu certitudine locul producerii sale, dar se pare că rolul esențial l-ar avea țesutul tumoral splenic, celula SR fiind sediul unei intense sinteze de Ig. Nu se cunoaște rolul acestor anticorpi în declanșarea afecțiunii, dar prezența aceluiași tip de auto-anticorpi la rudele de grd. I și II ale pacienților cu BH și uneori, la personalul de îngrijire, sugerează cu mare probabilitate o predispoziție genetică și/sau un factor etiologic unic, posibil infecțios (27).

Studii recente au demonstrat depozite de *feritină* (21) pe suprafața limfocitelor T la pacienții cu BH, cu scăderea consecutivă a scorului de rozetare și revenirea la normal după incubare cu levamisol. Nu s-a stabilit dacă feritina este de origine limfocitară, sau e secretată de monocite și adsorbită pe limfocitul T. Constatarea este însă surprinzătoare și se încadrează în contextul unor date clinico-biologice bine cunoscute : BH evoluează cu anemie hipocromă de tip inflamator, care se corectează *spontan* în cursul remisiunii. Dat fiind rolul bacteriostatic al fierului în organism, constatarea poate oferi totodată un argument în favoarea etiologiei infecțioase a BH.

II. Deficitul apărării celulare poate fi numai aparent, în realitate existînd o *hiperfuncție* a sistemului limfocitar T, concentrată însă în scopul eliminării clonei neoplazice, cu insuficiență relativă a reactivității față de antigenele uzuale. În sîngele pacienților cu BH s-a demonstrat existența unui număr variabil de limfocite aflate în perioada de sinteză a ADN : sînt celule mari (15—20 microni), cu aspect de celulă limfoidă activată (imunoblast). În consecință, o nouă tentativă de transformare blastică *in vitro* sub acțiunea mitogenilor eșuează. Situații similare se întîlnesc în cursul unor infecții virale (mononucleoză infecțioasă, hepatită virală).

III. *Perturbarea activității sistemului limfatic T*. Studii recente asupra sistemului limfatic T au relevat faptul că activitatea supresoare

Scanned with OKEN Scanner

se exercită nu numai asupra sistemului B, dar și asupra reacției de apărare celulară. Twomey și col. (29) au demonstrat existența celulelor supresoare circulante la 16/30 pacienți cu BH, capabile să inhibe *in vitro* răspunsul în cultură mixtă limfocitară. Engelmann și col. (5) au decelat același tip de celule la 41/70 pacienți cu BH și au demonstrat că acțiunea supresoare este codificată genetic de locusul HLA-D. Hillinger și Herzig (14) au constatat că activitatea supresoare la pacienții cu BH este determinată de o subpopulație T, dar și de celule *macrophage-like*. Goodwin și col. (10) au sugerat că influența supresoare a acestora se realizează prin intermediul prostaglandinei E_2, iar indometacina, inhibitor al *prostaglandin-sintetazei*, determină reapariția răspunsului blastogenic *in vitro*. Constatarea poate avea valoare clinică excepțională.

Inducerea și/sau exacerbarea activității supresoare se poate realiza prin agenți iradianți, chimici, virali. Ciclofosfamida și Prednisonul, droguri de elecție în tratamentului BH, deprimă celulele supresoare, în timp ce imunoterapia (BCG, *Corynebacterium parvum*), exacerbează activitatea acestora, deci poate avea efect nociv.

Patogenia bolii Hodgkin

Prin prisma datelor menționate, se pot contura următoarele ipoteze asupra patogeniei BH :

1. *Hipofuncția timică*. Experimental, timectomia neonatală determină incompetența imună a sistemului T și perturbarea imunității umorale secundar lipsei de cooperare T—B. În evoluție, se constată aspecte histologice similare BH, cu scăderea densității limfocitelor mici în țesutul limfatic, apariția unor elemente mari, de aspect imunoblastic și a plasmocitelor imature. Animalele dezvoltă în final limfoame maligne. Lipsa de supraveghere T—B explică apariția fenomenelor autoimune (de ex., anemie hemolitică, întîlnită atît la animalele timectomizate neonatal, cît și în BH) și cazurile rare, raportate în clinica umană, de transformare a limfadenopatiei angioimunoblastice în BH, deci a unei afecțiuni la limită cu malignitatea, rezultînd în urma unor stimulări antigenice repetate pe teren cu deficit imun T, într-o afecțiune malignă cu același caracter imunologic. În general însă, limfadenopatia angioimunoblastică evoluează direct spre imunoblastosarcom, care apare identic histologic cu stadiul de depleție limfocitară al BH (1, 4, 8, 19, 31).

Transplantul de timus fetal la pacienții cu BH std. III—IV determină creșterea numărului de limfocite și normalizarea testelor de imunitate celulară.

Hipofuncția timică poate fi înnăscută sau secundară agresiunilor fizice, toxice și infecțioase.

2. *Reacția de grefă-contra-gazdă.* Green și col. (12), remarcînd identitatea tabloului clinic și histologic al BH cu reacția cronică de GVH sugerează că, în cursul vieții intrauterine, trec în circulația fetală limfocite materne, care persistă paralel cu limfocitele proprii, ca linie cu *antigene unic materne*, sînt tolerate de făt și ulterior de copil datorită perioadei „privilegiate" în care a avut loc impactul antigenic, dar sînt capabile să inițieze reacție imună contra antigenelor paterne ale organismului. Boala Hodgkin ar surveni pe fondul unei astfel de himere hematologice, ca reacție cronică de *runt-disease*. Pledează în acest sens datele clinice, care relevă asocierea frecventă a fenomenelor autoimune în BH : anemie hemolitică ; purpură trombocitopenică idiopatică ; sd. nefrotic ; tulburări neurologice cu evidențierea de autoanticorpi ; LED și dermatomiozită care survin de 3—4 ori mai frecvent în BH (și în leucemia limfatică cronică) decît în alte afecțiuni neoplazice, eventual asocierea celei de a II-a neoplazii după obținerea remisiunii complete în BH prin radio- și chimioterapie.

3. *Etiologia infecțioasă, posibil virală, a BH.* Include primele două ipoteze și pare cea mai plauzibilă în contextul datelor actuale. Ipoteza este susținută de trei categorii de fapte :

a) *datele epidemiologice* relevă izbucnirea BH în colectivități, cu o perioadă de „incubație" de 4—6 luni. Cu puține excepții, nu se poate exclude însă rolul terenului genetic comun în apariția afecțiunii. Astfel, într-un studiu pe 1 500 de locuitori (din Newfoundland), Buehler și col. (3) decelează o familie în care se constată 7 cazuri de BH, 3 limfosarcoame, 2 cazuri cu diferite anomalii imune și trei cazuri cu alte neoplazii, într-un interval de 10 ani. Gradul înalt de consanghinitate în familia menționată și absența limfoamelor maligne în restul populației pe aceeași perioadă, sugerează importanța fondului genetic. Într-unul din cazurile observate de unul din noi (13), apariția BH la copil a coincis cu perioada de agravare bruscă a unui imunoblastosarcom la tată. Constatarea de autoanticorpi citotoxici la rudele de grd. I și II ale pacienților cu BH sugerează de asemenea sinergia teren genetic — agent infecțios în declanșarea bolii (20) ;

b) constatarea *contactului* intens și prelungit cu iepuri de casă în antecedentele bolnavilor, atît în cazuri izolate, cît și în colectivități, sugerează eventualitatea transmiterii unui agent infecțios *animal-om.*

c) *rolul virusului Epstein-Barr* : este sugerat de existența mononucleozei infecțioase în antecedentele bolnavilor cu BH. Cel mai semnificativ studiu este al lui Rosdahl și col. (25), care, pe 17 073 pacienți cu mononucleoză infecțioasă în antecedente, raportează frecvența semnificativ crescută a BH față de martori, intervalul între mononu-

cleoza infecțioasă și apariția BH fiind în medie de 10 ani. În acest context, afirmațiile sporadice din literatură privind caracterul fortuit al asocierii EBV-BH își pierd semnificația, cel puțin momentan.

Succesiunea fenomenelor în mononucleoza infecțioasă este următoarea : virusul Epstein-Barr (EBV) infectează *limfocitul B* (singurul care prezintă receptori pentru EBV). Acesta intră în perioadă activă de sinteză a ADN, multiplică genomul viral, modificîndu-și astfel structura antigenică și ieșind de sub controlul reglator exercitat de limfocitul T. La rîndul său, limfocitul T se transformă blastic pentru a elimina clona infectată limfocitară B. În acest moment, testele *in vitro* și *in vivo* de apreciere a imunității celulare apar negative (ca și în BH). Dacă mononucleoza infecțioasă evoluează pe teren cu deficit timic înnăscut, dacă în cursul procesului viral se ajunge la epuizarea capacității funcționale a limfocitului T, sau dacă infecția evoluează pe teren HLA-D, care codifică genetic acțiunea supresoare a limfocitelor T asupra imunității celulare, clona B infectată nu este eliminată decît parțial, continuă să prolifereze și să-și exercite haotic funcția imunoglobulino-secretoare. Ca urmare, *turn-overul* limfocitar T și B crește, se accentuează deficitul imun al sistemului T, clona infectată realizează aspectul atipic, poliploid, caracteristic celulei Hodgkin și SR, iar Ig secretate de aceste elemente sînt cel puțin în parte, anticorpi anti-limfocit T, care închid cercul vicios.

Ipoteza menționată explică prezența conflictului imun care caracterizează BH pe plan clinic și histologic și de asemenea, explică fenomenul de autoagresiune B—T secundar activității imunosecretorii a celulei SR, cu instalarea consecutivă a deficitului imunității celulare. Un rol esențial revine de asemenea celulelor T sau celulelor *macrophage-like* cu activitate imunosupresoare asupra apărării celulare a căror existență a fost demonstrată la pacienții cu BH și apariția lor, codificată genetic, poate fi provocată secundar agresiunii virale.

Consecințele practice nu pot fi încă evaluate. S-a propus administrare de factor de transfer limfocitar, interferon, extract de timus, imunostimulare cu BCG — raportîndu-se ameliorarea duratei și a calității supraviețuirii. Sau, dimpotrivă, s-a remarcat rezultat defavorabil prin imunostimulare, datorită exacerbării acțiunii celulelor supresoare, unii autori contraindicînd formal imunoterapia în BH. Accentuarea deficitului imunității celulare după splenectomie a impus reconsiderarea indicației de splenectomie „de principiu", cel puțin la pacienții pînă la 16—18 ani. Datele din literatură sînt însă contradictorii.

Scanned with OKEN Scanner

Corelații morfologice, imunologice și prognostice

Diversele constatări și ipoteze imunologice au fost urmate de prețioase consecințe practice :

1. *Consecințe terminologice* : stimulul oncogen determinînd numai apariția celulei SR, nu și a granulomului, care este alcătuit din celule morfologic normale, vechea denumire de „limfogranulomatoză malignă" nu-și mai are justificarea ;

2. *Consecințe pe plan nosologic și prognostic* : *a.* prezența reacției de apărare de tip celular, promptă și intensă, determină caracterul inițial localizat al BH și în consecință, stadializarea clinică și a intervenției terapeutice ; *b.* cunoașterea naturii diferite a celor două componente morfologice esențiale ale BH — celula SR, element malign — și granulomul — reacție de apărare antineoplazică — a permis lui Lukes și Butler (Rye, 1966) realizarea unei clasificări histologice corelată cu prognosticul afecțiunii. Parametrul morfologic care reflectă prognosticul BH este proporția de limfocite din granulom, expresie a capacității imune a organismului. Epuizarea resurselor de apărare antineoplazică se oglindește în depleția limfocitară progresivă și dispariția celorlalte elemente ale granulomului. Clasificarea Lukes-Butler cuprinde următoarele forme (sau stadii) :

I. forma *limfocitară* (difuză sau nodulară), conținînd un număr redus de celule Hodgkin și SR (fig. 28, 29) ;

II. forma *sclero-nodulară* : scleroză nodulară la care se adaugă limfocite, histiocite și rare celule SR (fig. 30, 31) ;

III. forma *mixtă*, corespunzînd „limfogranulomatozei maligne" clasice și comportînd numeroase celule SR pe fondul celular „pestriț" cunoscut, la care se adaugă un număr variabil de limfocite și elemente de fibroză difuză (fig. 32, 33) ;

IV. forma cu *depleție limfocitară*, avînd două variante : *fibroasă*, comportînd fibroză malignă cu fibroblaști atipici și rare celule SR (Fig. 34, 35) și forma *„reticulară"*, constînd dintr-un mare număr de celule SR pe un fond de celule „reticulare" (histiocitare), cu marcate atipii. Uneori se realizează o formă particulară, cu histiocite „lacunare" (Fig. 36). Biopsii seriate au arătat că formele I, III și IV trec din una în alta, pe cînd forma sclero-nodulară este un tip stabil în timp. Acest tip lezional de BH apare mai ales la femei, de preferință la vîrste tinere.

În fig. 37, 38, 39 sînt redate diferite aspecte ale celulei SR și ale precursorului ei, celula Hodgkin.

Tosi și col.(28) au propus o clasificare mixtă a bolii Hodgkin, bazată pe criterii histologice și imunologice, cu posibilități de previziune prognostică :

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 16
Limfadenopatia imunologică limfoblastică
Se mai păstrează resturi din structura limfoganglionară

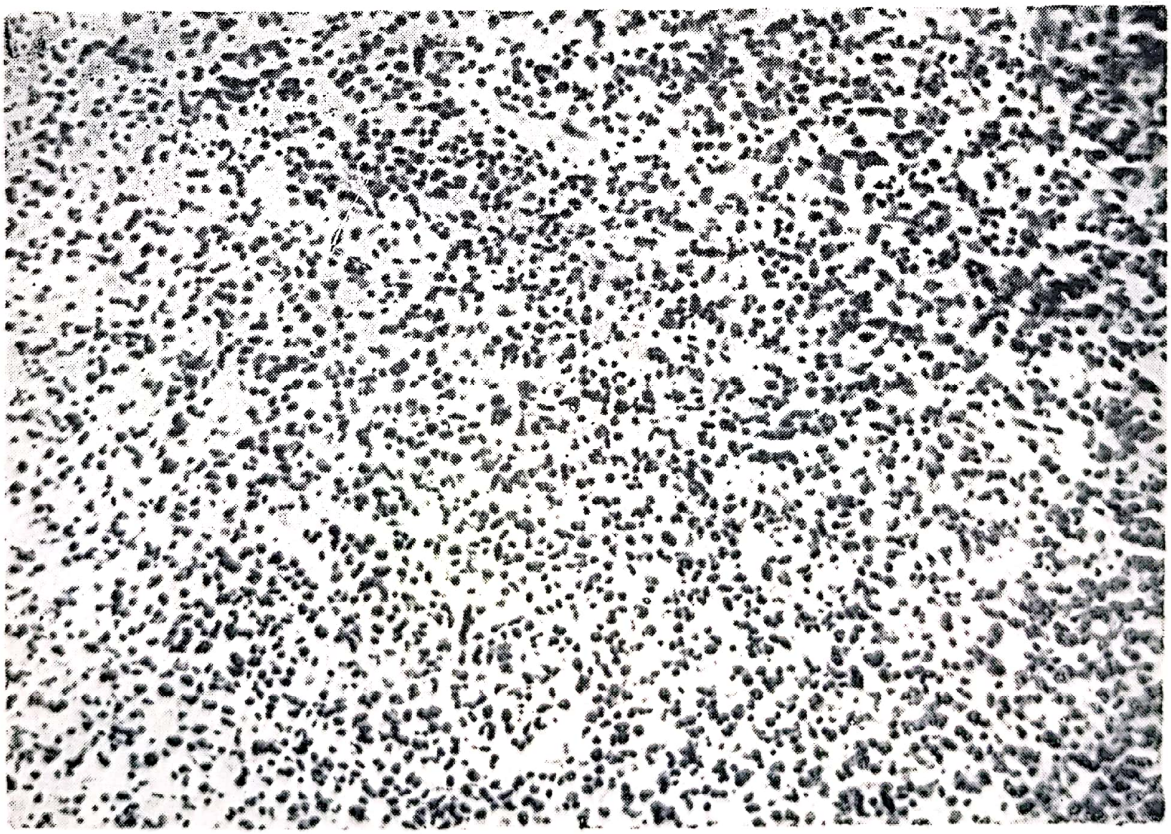


Fig. 17
Limfadenopatie imunologică limfoblastică
Același caz. Se observă o cantitate redusă de substanță amorfă acidofilă intercelulară

Scanned with OKEN Scanner

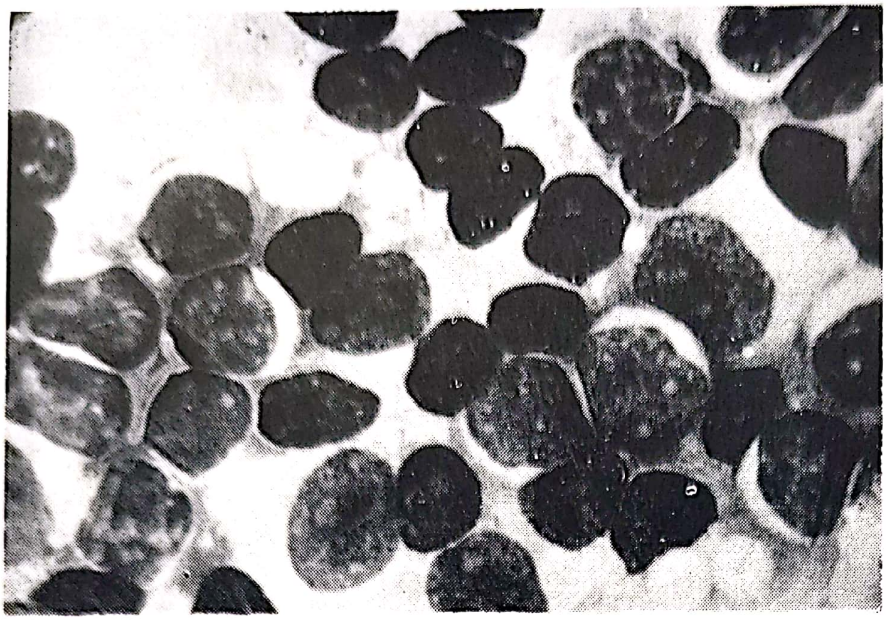


Fig. 18
Limfadenopatie imunologică limfoblastică

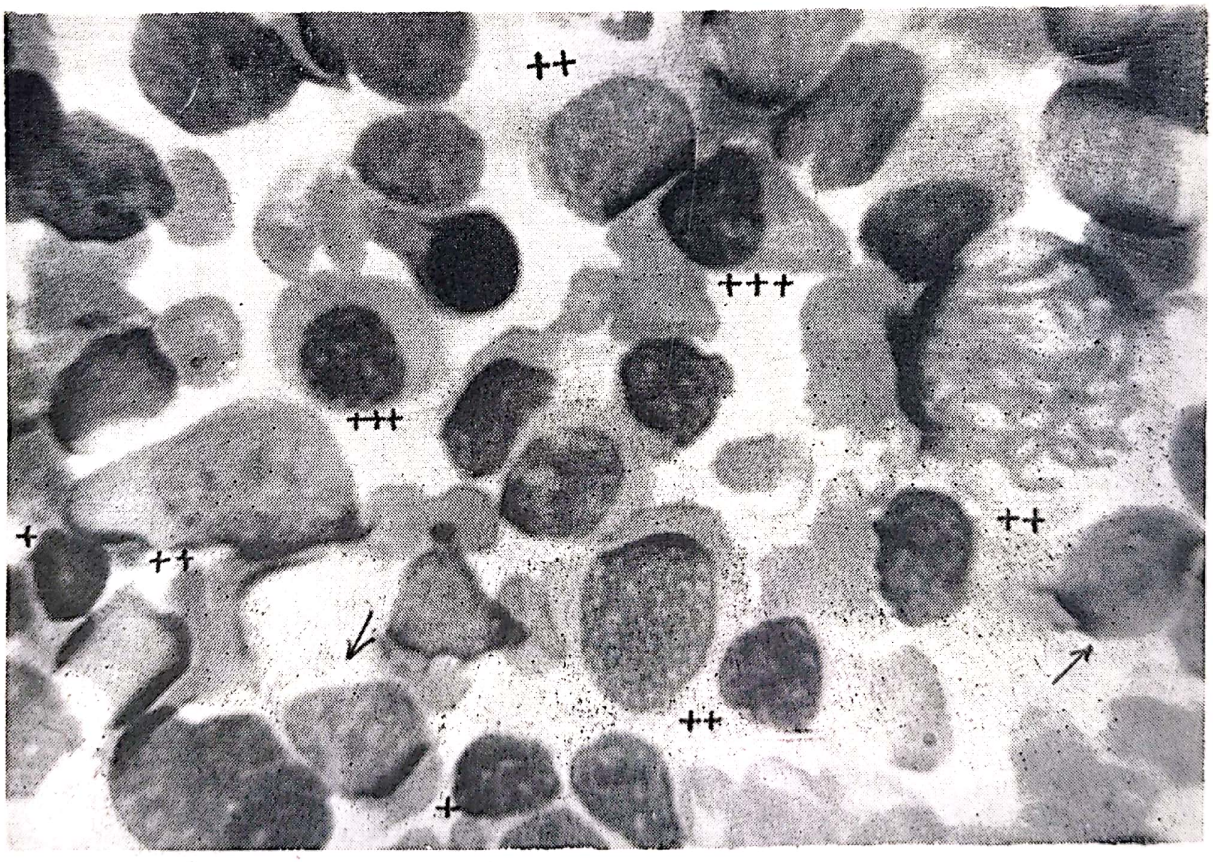


Fig. 19
Limfadenopatie angioimunoblastică
Se observă polimorfismul celular limfoid caracteristic modulării active : limfocite „mici" (+) ; imunoblaști (++), unul în mitoză ; plasmoblaști, plasmocite (+++) ; celule centrofoliculare (celule limfoide blastice intermediare) (→).

Scanned with OKEN Scanner

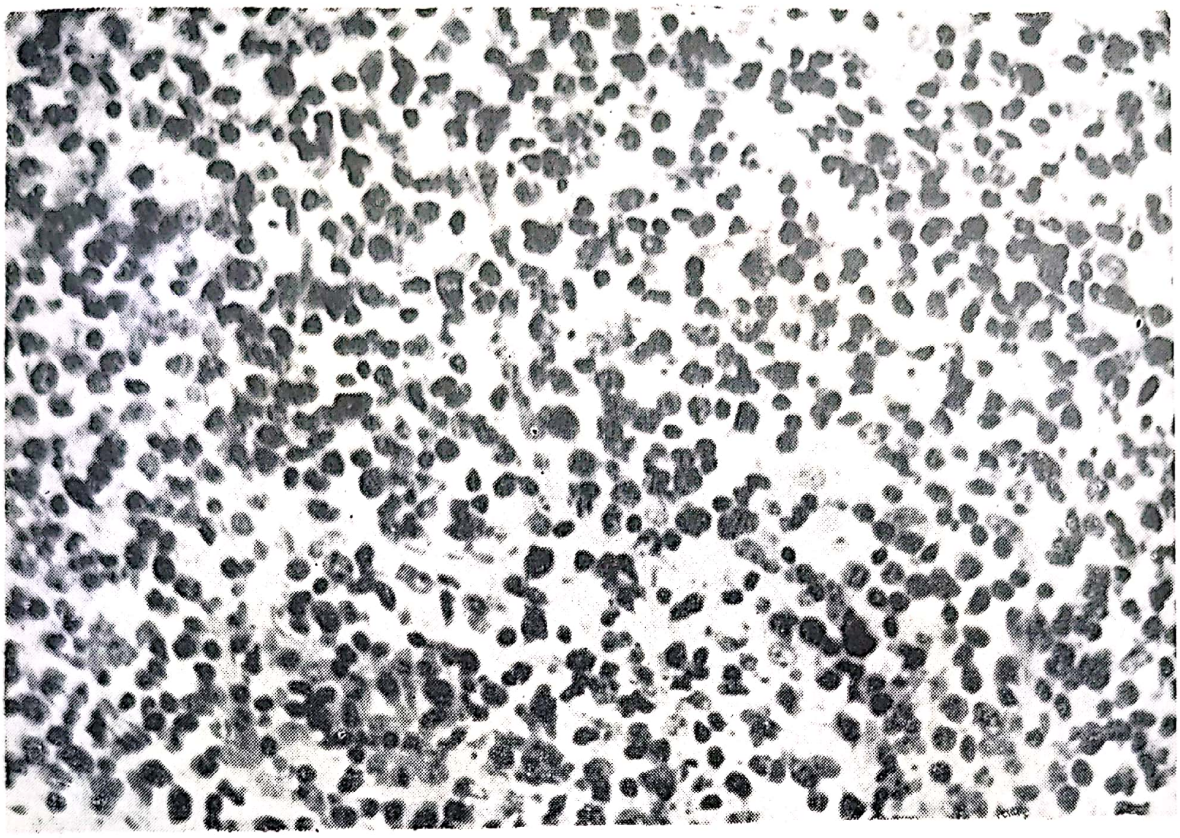


Fig. 20

Limfadenopatie angioimunoblastică
Se observă polimorfismul modulației celulare limfoide și abundența substanței PAS pozitive intra- și mai ales extracelular.

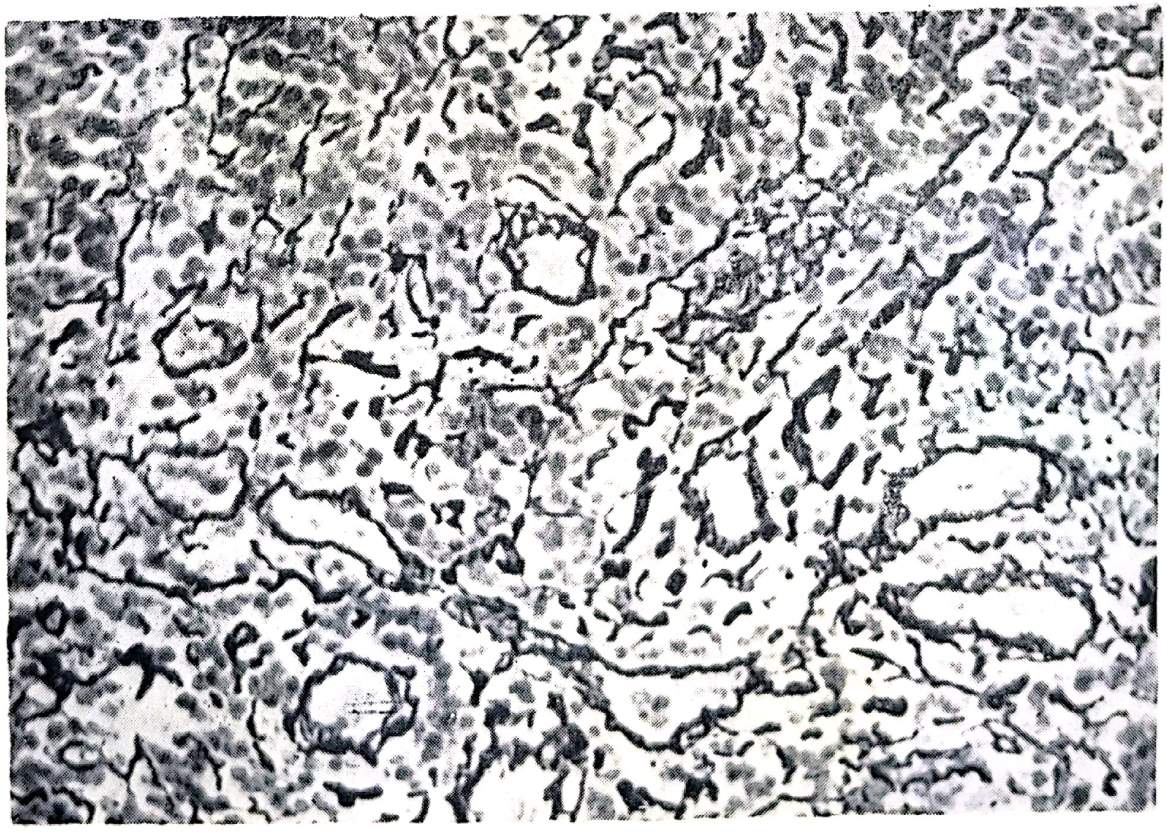


Fig. 21

Limfadenopatie angioimunoblastică (Se observă intensa neoangiogeneză).

Scanned with OKEN Scanner

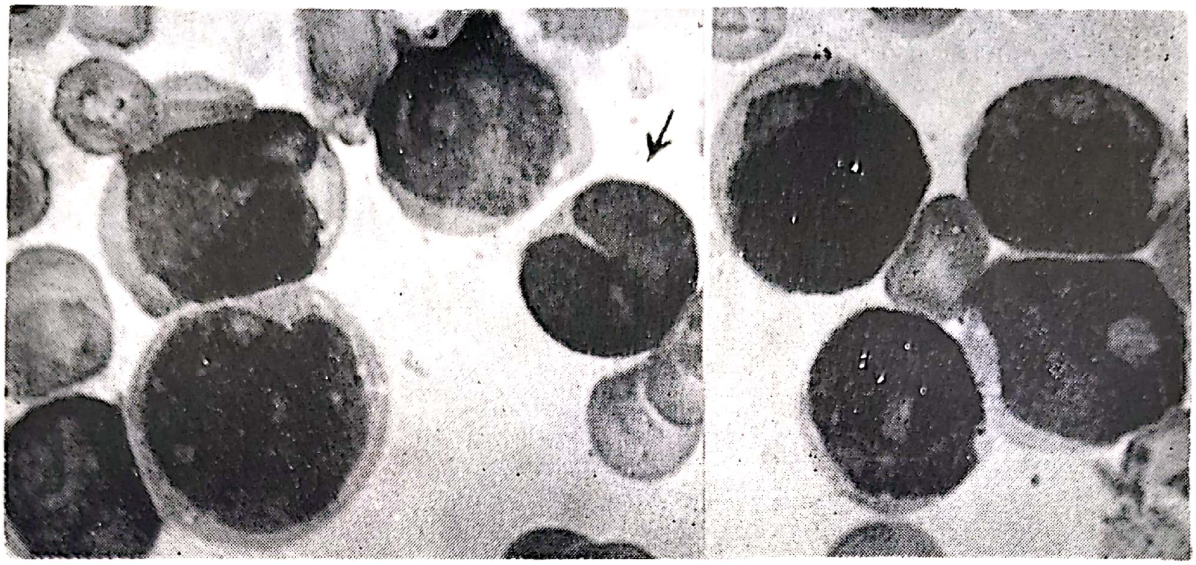


Fig. 22
Imunoblastosarcom, formă monomorfă (frotiu limfoggl.)
Se observă imunoblaşti intens anaplazici (nuclei foarte neregulaţi, înmuguriţi, plicaturaţi, convoluţi ; nucleoli mari, multipli). Un element limfoid puternic ancoşat (săgeată).

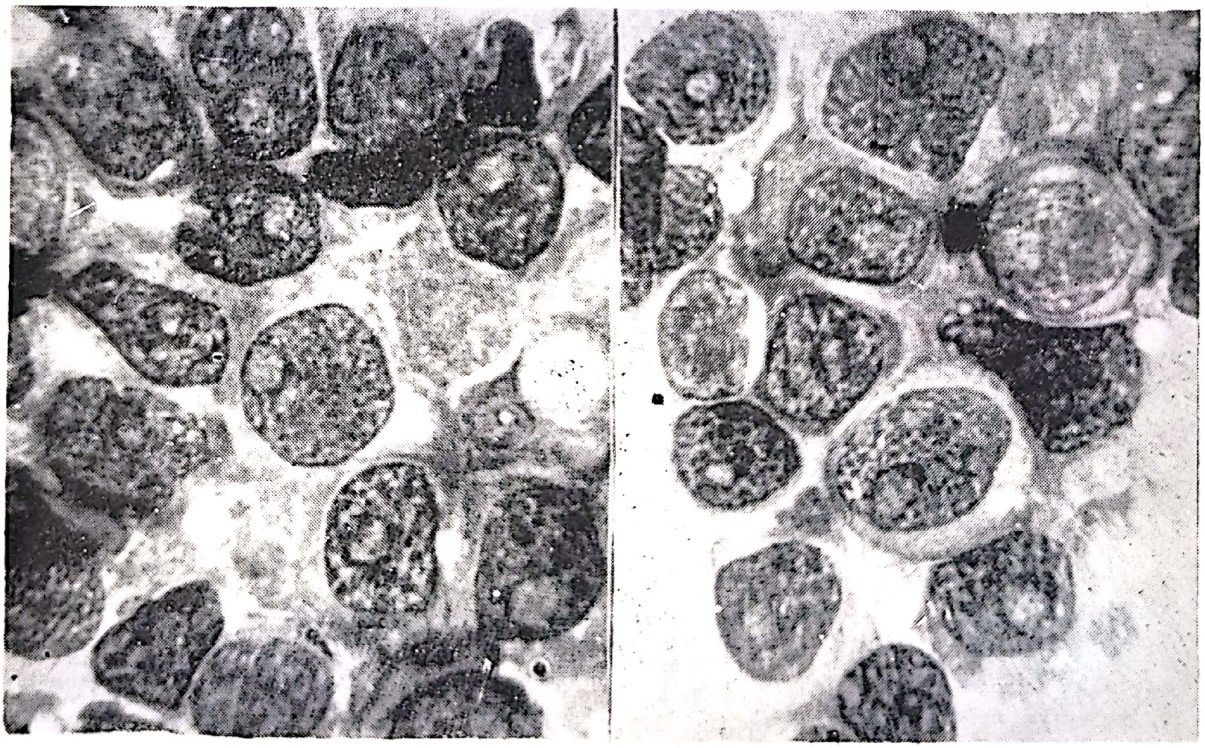


Fig. 23
Imunoblastosarcom monomorf (frotiu limfoggl.)
Anizonucleoză, structură cromatiniană neregulată, nuclei deformaţi, nucleoli dezvoltaţi. Absenţa altor celule limfoide. Este vorba de un IS primitiv, spre deosebire de fig. 7 unde, fiind vorba de un IS după LAI, alături de imunoblaştii anaplazici, se văd şi limfocite, limfoplasmocite, plasmocite.

Scanned with OKEN Scanner

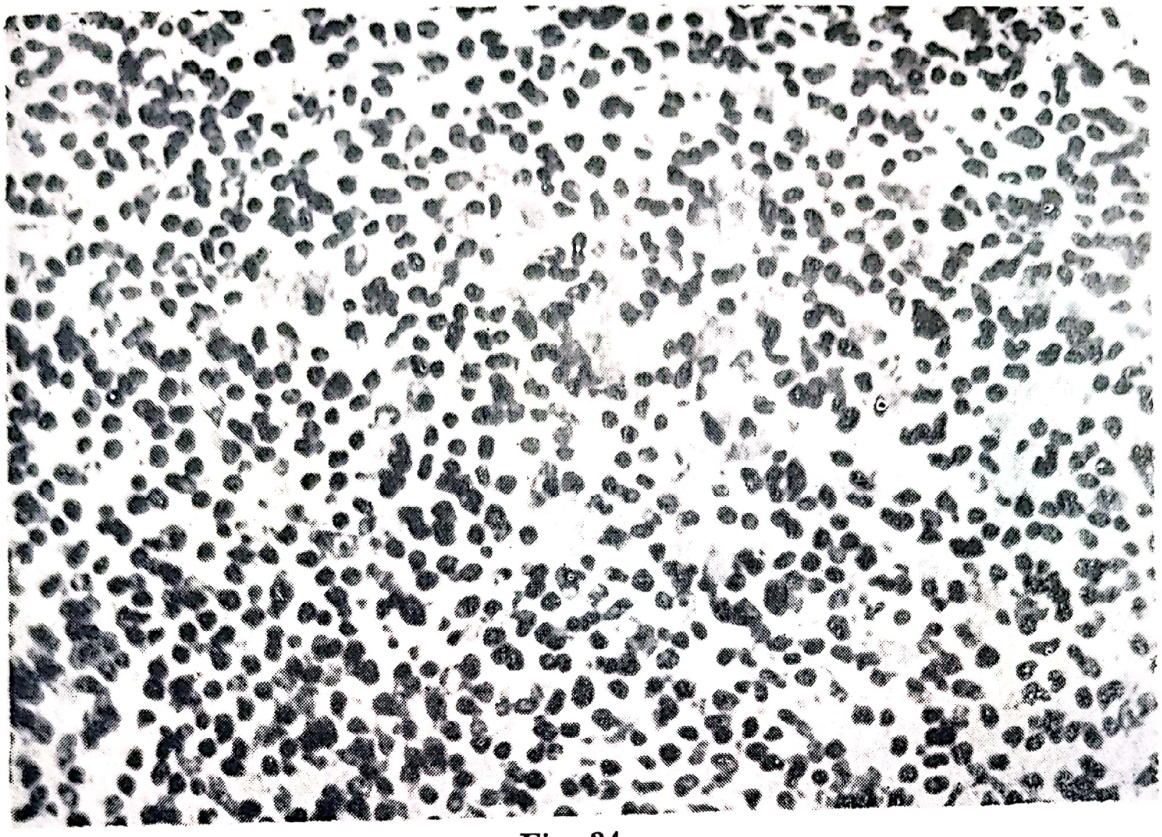


Fig. 24

Imunoblastosarcom secundar unei limfadenopatii angioimunoblastice. Se observă persistența unui grad de modulație, exprimat prin polimorfism celular cu numeroase plasmocite. Se observă de asemenea bogată substanță PAS pozitivă intra- și mai ales extracelular.

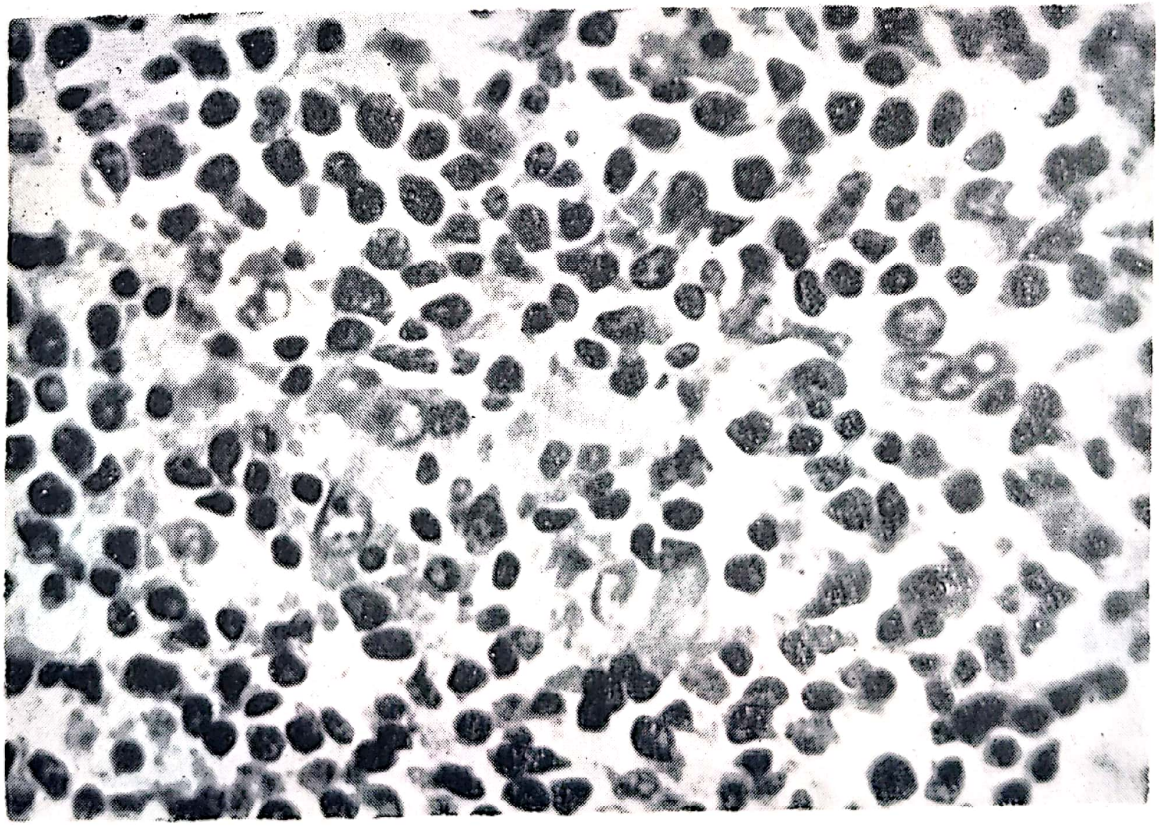


Fig. 25

Imunoblastosarcom primitiv

Modulare mult mai săracă decît în fig. 24.

Se observă substanța acidofilă amorfă intra- și extracelular.

Scanned with OKEN Scanner

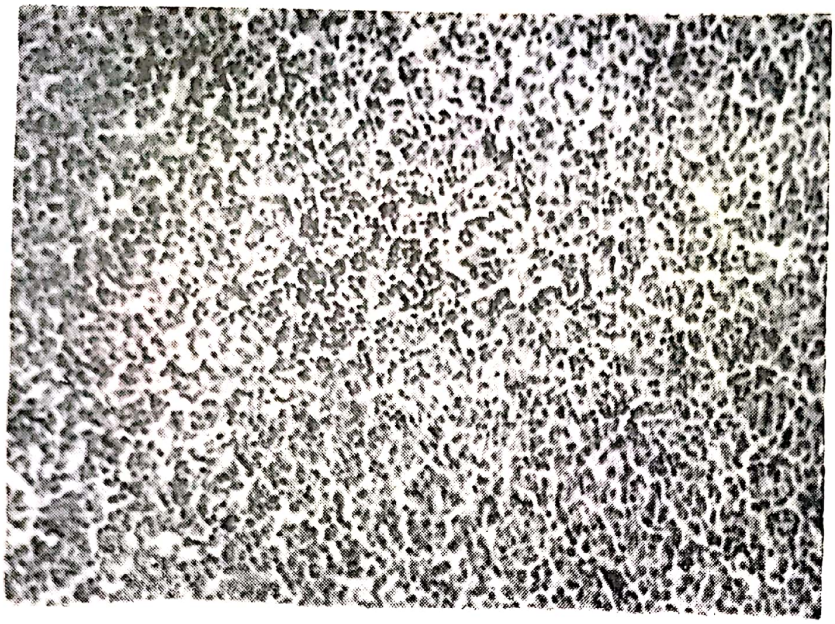


Fig. 28
Boală Hodgkin. Formă limfocitară difuză. Imagine de ansamblu.

Fig. 29
Boală Hodgkin. Formă limfocitară. Detaliu : celulă Sternberg-Reed

Fig. 30
Boală Hodgkin. Forma sclero-nodulară. Imagine de ansamblu.

Scanned with OKEN Scanner

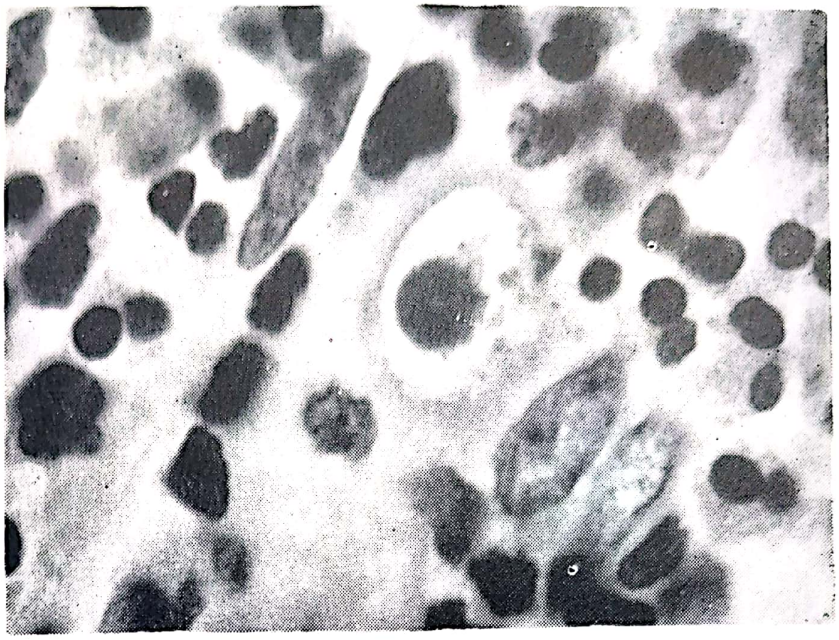


Fig. 31
Boală Hodgkin. Formă sclero-nodulară. Detaliu : celulă Hodgkin, infiltrat polimorf, nuclei fibrocitari.

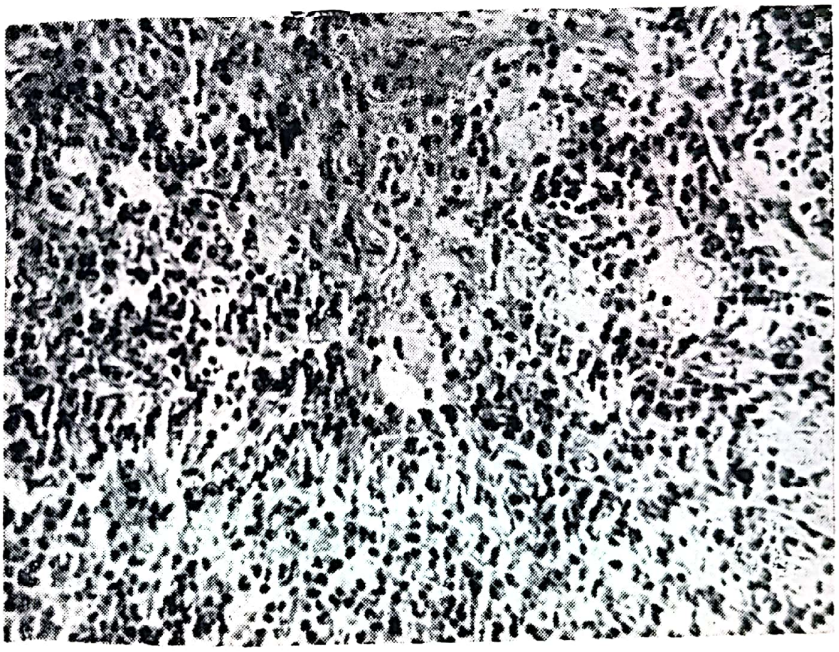


Fig. 32
Formă cu celularitate mixtă. Imagine de ansamblu.

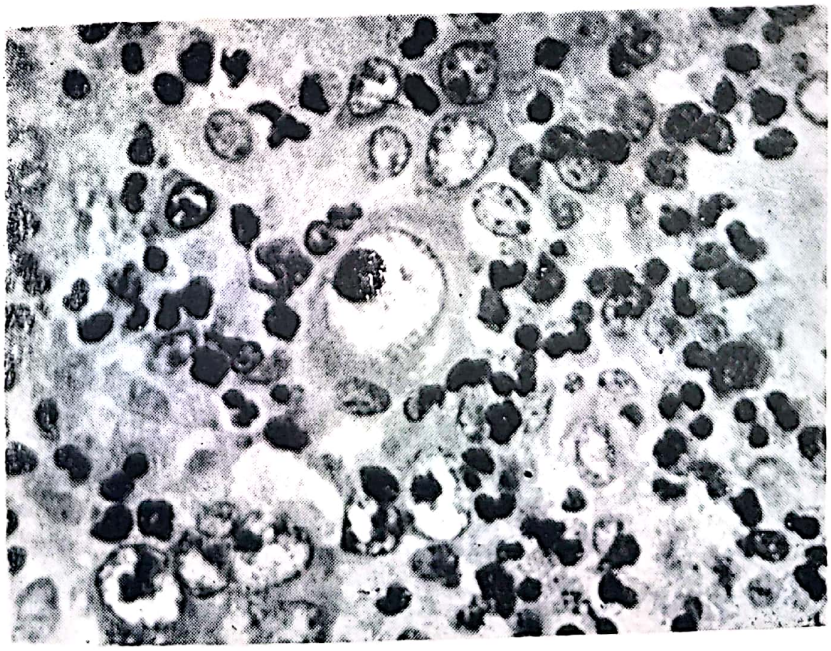


Fig. 33
Boală Hodgkin. Formă cu celularitate mixtă. Detaliu : celulă Sternberg-Reed, eozinofile.

Scanned with OKEN Scanner

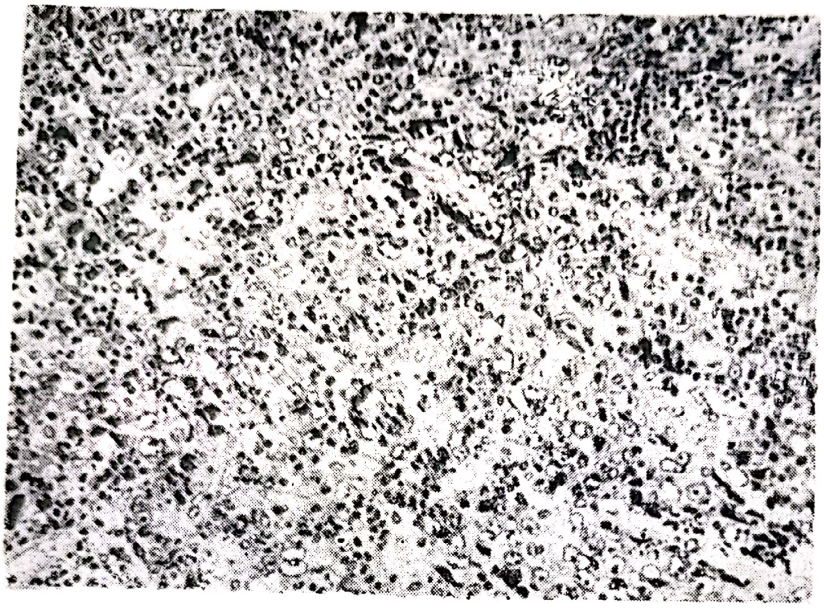


Fig. 34
Boală Hodgkin. Formă cu depleție limfocitară. Imagine de ansamblu.

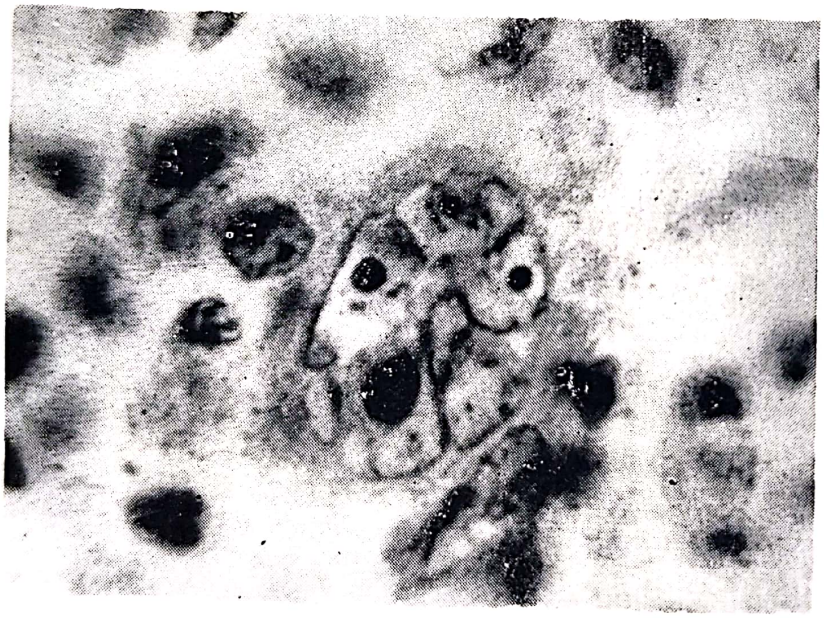


Fig. 35
Boală Hodgkin. Formă cu depleție limfocitară. Detaliu : celulă Sternberg-Reed.

Fig. 36
Boală Hodgkin. Formă cu depleție limfocitară. Histiocite lacunare.

Scanned with OKEN Scanner

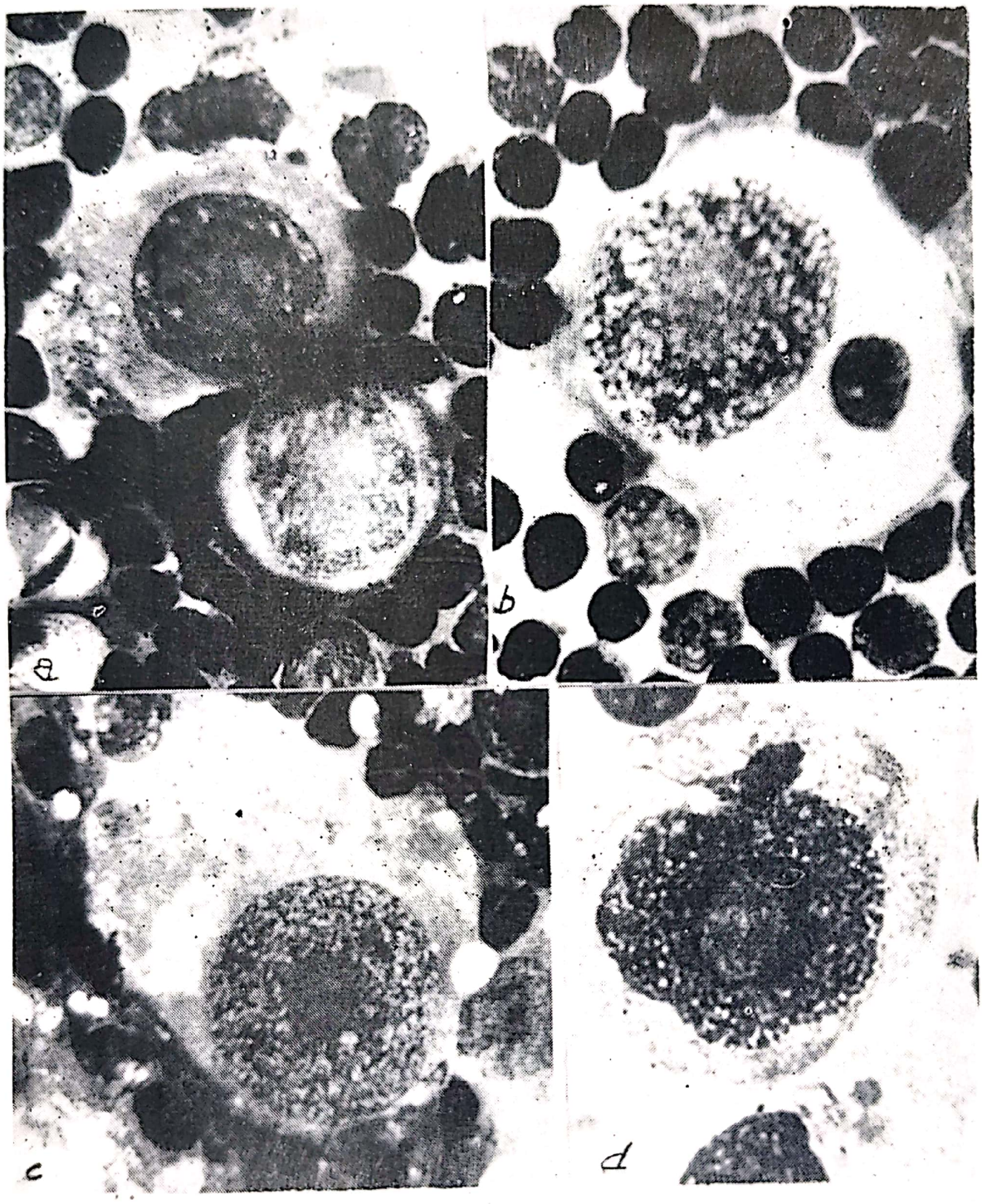


Fig. 37

Diferite aspecte de celule Hodgkin (prep. G. Popa)

Se observă nucleolii giganți. Celulele Hodgkin din a. evocă descendența imunoblastică.

Scanned with OKEN Scanner

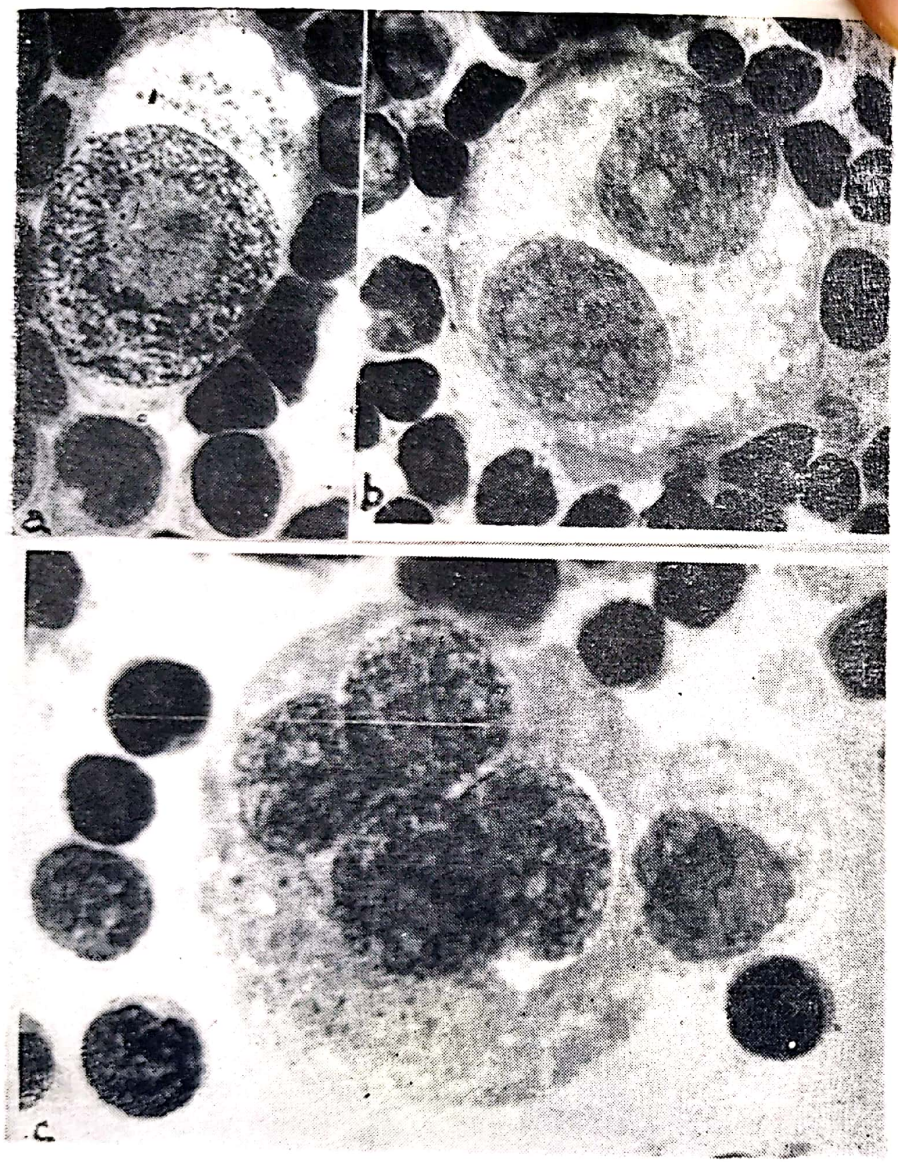


Fig. 38

Trecere de la celula Hodgkin la celula Sternberg-Reed (Prep. G. Popa)

a. Celulă mononucleată, Hodgkin.
b. Celulă gigantă binucleată.
c. Celulă Sternberg-Reed cu 6 nuclei.

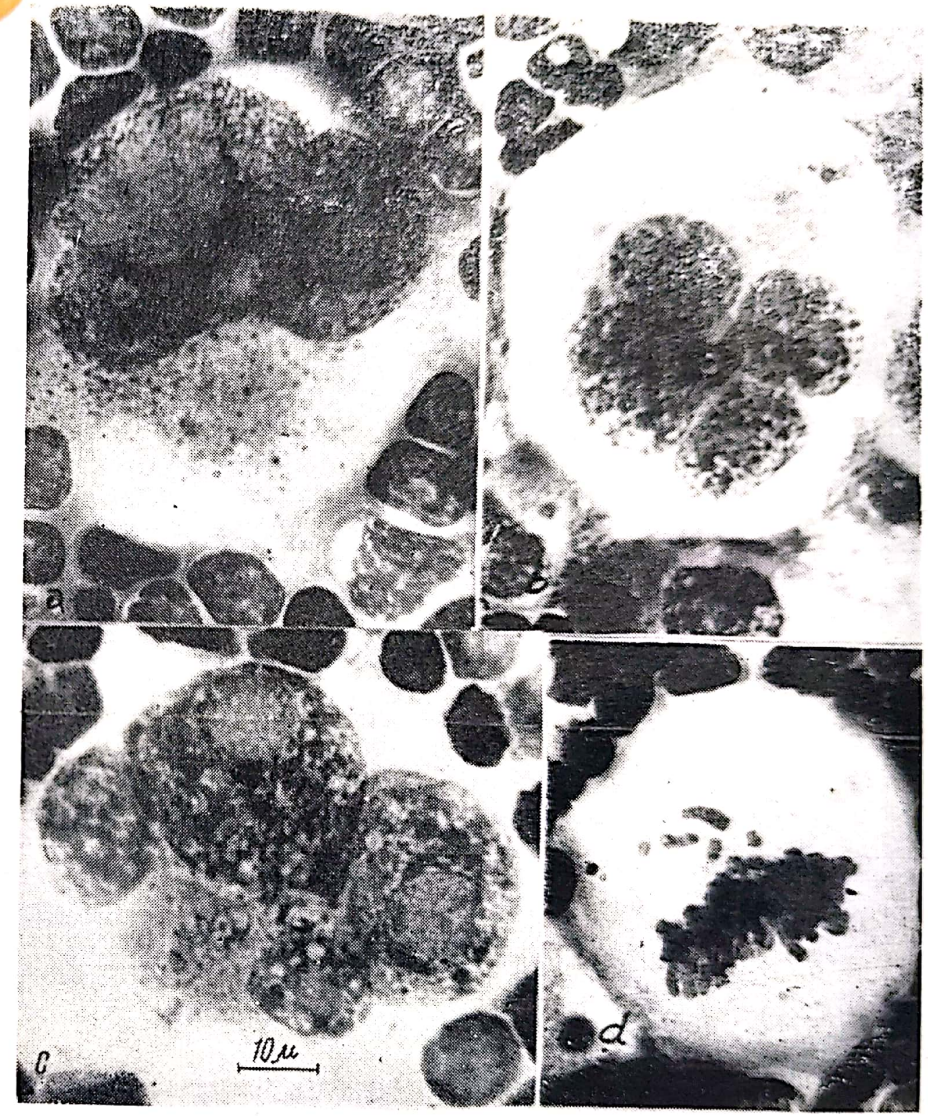


Fig. 39

Diverse aspecte de celule Sternberg-Reed (prep. G. Popa)

a. Celulă SR de peste 100 microni, cu nucleu polilobat și granulații azurofile în citoplasmă.
b. Celulă SR cu 4 nuclei. Nucleoli greu vizibili.
c. Celulă SR cu 4 nuclei. Nucleoli mari, bine conturați.
d. Celulă SR în mitoză.

Scanned with OKEN Scanner

a) *cazuri cu supraviețuire îndelungată* : păstrarea ariilor celulare nodulare B și T ale limfoganglionilor sau prezența de fibroză extensivă;

b) *supraviețuire medie* : păstrarea parțială a infiltrației celulare nodulare și/sau epitelioide ;

c) *supraviețuire scurtă* : lipsa aspectelor menționate.

3. *Consecințe terapeutice.* Corelația între aspectul clinic, histologic și prognostic a fost demonstrată statistic : prognosticul cel mai bun se constată în forma cu predominanță limfocitară, std. I clinic, la care supraviețuirea mediană de la diagnostic este de 12,75 ani, în timp ce forma cu depleție limfocitară, std. cl. IV, prezintă o durată de supraviețuire de numai 0,5 ani din momentul diagnosticului. Aceasta a permis stadializarea terapiei (7) : în std. clinic I—III A se recomandă radioterapie lărgită (4 500 R DT) ; în std. IB, II B (indiferent de histologie) și std. I A, II A, III A cu prognostic histologic nefavorabil (tipul mixt și cu depleție limfocitară) se efectuează radioterapie (3 000 — 3 500 R) + chimioterapie (COPP, MOPP) ; în std. III B, IV A și IV B, chimioterapie ± radioterapie complementară pe cîmpurile implicate (2 500 —3 000 R). Pentru întreținere se procedează în funcție de aceleași criterii clinico-histologice : în std. I A, II A și III A, tip histologic I și II, fără afectare splenică, se evită agresiunea terapeutică și se efectuează control lunar al parametrilor de evolutivitate ; în std. I B, II B, III A cu afectare splenică, IV A și B, indiferent de aspectul histologic și I A, II A, III A fără afectare splenică dar cu tip histologic defavorabil (mixt sau cu depleție limfocitară), se recomandă monoterapie cu VBL, CPM sau Leukeran, sau aplicarea periodică (la 3 luni) a schemelor MOPP, COPP, cel puțin doi ani de la sfîrșitul tratamentului de inducție.

Stadializarea tratamentului este, pînă în prezent, consecința cea mai importantă a datelor actuale de imunopatologie din boala Hodgkin.

BIBLIOGRAFIE

1. *Berthoux F. C. et al.* Nouv. Presse Méd. 1976, *5*, 255.
2. *Brown G. et al.* Lancet, 1974, *2*, 753.
3. *Buehler S. K. et al.* Lancet, 1975, *I*, 7900, 195.
4. *Chu J. Y. et al.* J. Paediatr., 1976, *89*, 429.
5. *Engelmann et col.* cit. de 27.
6. *Faguet G. B.* J. Clin. Invest., 1975, *56*, 951.
7. *Fetzer J. et al. Adriamycin : 2. Bd., Solide Tumoren : Hämoblastosen.* Kehrer Offset KG, Freiburg, 1978.
8. *Fink K. et al.* Cancer, 1976, *37*, 1999.
9. *Gajl-Peczalska K. J. et al.* Clin. Exp. Immunol., 1976, *23*, 47.
10. *Goodwin et al.* cit. de 24.
11. *Graze P. R. et al.* J. Natl. Cancer Inst., 1976, *56*, 239.
12. *Green J. et al.* Lancet, 1960, *I*, 30.

Scanned with OKEN Scanner

ACTUALITĂȚI ÎN PROBLEMA HEMOGLOBINELOR ANORMALE

de Ioan Voiculescu

Problema cunoașterii hemoglobinelor anormale pare la prima vedere o problemă menită să suscite interesul unui număr restrîns de specialiști. Este însă deajuns să amintim faptul că, atunci cînd J. Monod a imaginat mecanismul genetic al sintezei proteinice, a luat drept exemplu sinteza globinei, componentă majoră a Hb, pentru a ne da seama de ce studiul hemoglobinelor anormale deține valoare de prim ordin în înțelegerea mecanismelor intime ale așa-numitelor „boli moleculare" generate de defecte în sinteza proteinelor (18).

Desigur, sînt extrem de multe proteine funcționale implicate în categoria bolilor moleculare, dar nici una dintre ele nu este mai lesne la îndemîna cercetătorilor, atît prin marea ei cantitate în organism, cît și prin ușurința obținerii ei ca obiect de studiu. Acestea sînt motivele pentru care hemoglobinele anormale au fost primele și cel mai profund studiate, datele obținute putînd a ne face să înțelegem mecanismele complexe ale sintezei proteinice, ce par a se supune unor legi dacă nu identice, cel puțin încadrate în aceleași scheme generale (18).

I. Biochimia fiziologică a hemoglobinei

Proteinele funcționale, printre care se numără și hemoglobina, au fost asemuite cu adevărate mașini chimice și pentru a descifra mecanismul lor de acțiune, a fost necesar să fie analizate părțile lor componente atît detașate, cît și în conexiunile lor reciproce.

Punctul de plecare al acestei analize minuțioase l-a constituit studiul structurii spațiale a hemoglobinei. Perutz și colaboratorii săi au ajuns la concluzia că singura modalitate de a determina dispoziția atomică a unui solid este metoda cristalografică folosind razele X. Numeroși cercetători au contribuit pentru punerea la punct a metodei : Kendrew, Perutz, pentru studiul oxihemoglobinei ; Meirhed, Cox, Gooman, pentru forma oxigenată ; Bolton, Meirhead, Perutz pentru forma redusă (25, 26, 27).

Molecula de hemoglobină este aproximativ sferică și cuprinde patru subunități identice două cîte două, care sînt denumite alfa și beta

(fig. 40). Ele formează un tetraedru în jurul unei axe cu dublă simetrie, axă care trece printr-o cavitate umplută cu apă aflată la centrul moleculei. Fiecare subunitate conține 140 aminoacizi pentru lanțul alfa și

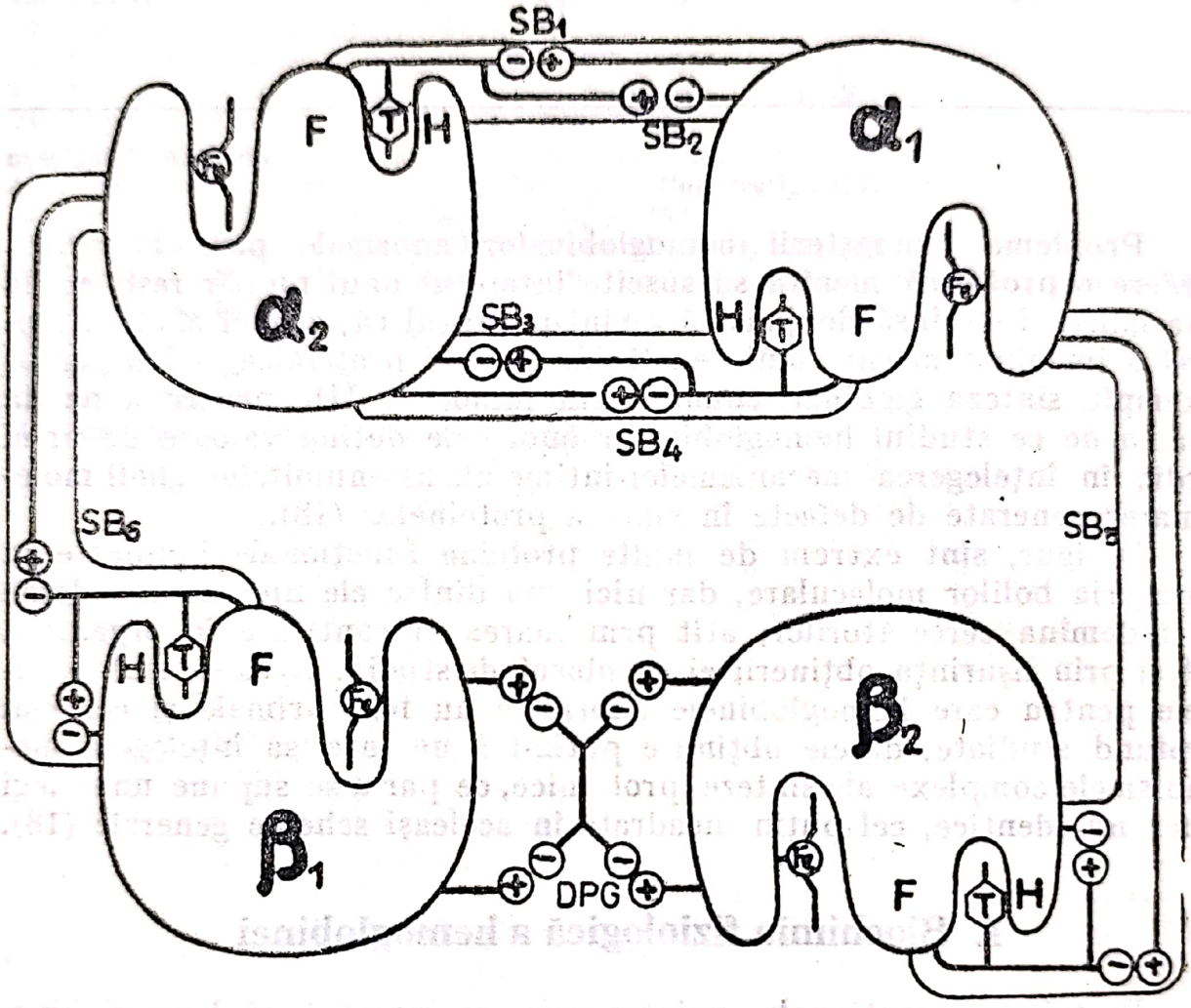


Fig. 40
Reprezentarea schematică a unei molecule de hemoglobină în forma desoxi (după Perutz)
— alfa$_1$, alfa$_2$, beta$_1$, beta$_2$: subunitățile moleculei de Hb
— F și H : helixurile fiecărei unități
— T : tirozina
— Fe : atomul de fier al nucleului porfirinic
— DPG : molecula de difosfo-glicerat cu cele patru încărcături negative

146 pentru lanțul beta, dispuse într-o secvență determinată genetic pentru a forma o catenă lungă, ale cărei segmente de lungimi diferite sînt rulate în unele porțiuni, iar în alte porțiuni sînt așezate liniar. Suprafața exterioară este căptușită de aminoacizi avînd încărcătură electrică polarizată, iar interiorul este tapetat cu aminoacizi neutri din punct de vedere electric. Acest lanț proteinic formează un fel de

buzunar în jurul hemului care este legat labil cu 60 de atomi ai globinei. Hemul este legat prin atomul său de fier la un grup azotat al aminoacidului histidină. Pe celălalt versant al hemului este un spațiu liber pentru oxigen (fig. 40) ; (25, 26, 27).

Încă de la începutul secolului, fiziologii și biochimiștii au descoperit că hemoglobina este o moleculă gigantă cuprinzînd cel puțin 10 000 de atomi, dintre care 4 atomi de fier, putînd fiecare să formeze o legătură chimică labilă cu o moleculă de oxigen. Pare surprinzător faptul ca o singură moleculă să fie capabilă să schimbe afinitățile chimice ale Hb în plin mediu al ciclului respirator, și ca aceste afinități să poată răspunde la reglarea a numeroși factori chimici care nu au aparent nici o conexiune între ei. Fiziologii au descoperit în ultimii ani că și funcții ale altor multiple proteine, incluzînd unele enzime și unii represori genetici, pot, ca răspuns la stimuli chimici specifici, să fie modificați asemănător cu hemoglobina și că aceste răspunsuri pot să joace un rol fundamental în activitatea chimică a celulei vii. Structura acestor proteine nu este cunoscută încă și mecanismul lor de acțiune nu este clar ; totuși, în 1965 J. Monod și colab. au propus o teorie fizică generală pentru a încerca să explice proprietățile lor deosebite. Ei au preconizat că aceste proteine ar trebui să fie constituite din mai multe subunități simetrice puse unele în raport cu altele și putînd fără încetare a trece dintr-o stare în alta. Ele s-ar diferenția prin structura subunităților lor și prin natura unităților ce le unesc. J. Monod le numește cu un termen care îi aparține : „proteine allosterice". El a încercat împreună cu colaboratorii săi să verifice teoria sa utilizînd ca obiect de studiu hemoglobina. Cu foarte mici excepții, ipotezele enunțate de acești autori au fost confirmate de rezultatele lucrărilor lui Perutz și colab. (25, 26, 27). Aceștia duc mai departe ideile enunțate de J. Monod, descoperind că, de fapt, această structură allosterică nu trebuie văzută ca un edificiu static, ci ca un mecanism dinamic, că nu este vorba de un simplu rezervor de oxigen, ci de un adevărat „plămîn molecular".

În prezența oxigenului, molecula de hemoglobină se comportă asemenea unui sistem de pîrghii, fiecare subunitate suferind o ușoară reajustare, hemul schimbîndu-și înclinarea cu cîteva grade, iar regiunile helicoidale ale globinei alunecînd unele în raport cu altele prin mișcări de ordinul 2—3 A, cu aproximativ 10° în raport cu axele centrale de simetrie, cît și una față de alta.

Faptul că patru molecule de oxigen și patru atomi de fier interacționînd printr-o slabă reacție chimică sînt capabile să determine o reașezare atît de profundă a moleculei de hemoglobină, a fost explicată prin proprietățile magnetice ale atomului de fier. Atomul de fier din forma venoasă a hemoglobinei este legat de cinci atomi din veci-

Scanned with OKEN Scanner

nătate. Doi din cei 6 electroni de valenţă ocupă orbite dirijate către legături chimice şi menţin la distanţă atomii înconjurători. În această situaţie atomul de fier apare prea mare pentru a se plasa în planul median al centurii formată din cei 4 atomi de azot ai porfirinei şi este obligat să ocupe o poziţie medială în direcţia celui de al cincilea atom de azot. Combinarea fierului cu oxigenul forţează electronii de a se deplasa în orbite şi permite atomilor de azot învecinaţi să se apropie de fier. În felul acesta atomul de fier este acum situat în planul median al inelului porfirinic. Prin această mişcare, centura porfirinică se deplasează faţă de molecula de globină cu aproximativ 1 Å, mişcare care reprezintă o valoare semnificativă privită la scara atomică. Această mică mişcare, privită de această dată la nivel molecular, reprezintă de fapt factorul care va declanşa în final reacţia de reajustare a întregii molecule de hemoglobină. Acest fenomen a fost prevăzut deja de către Haard, care a studiat prin metode cristalografice comportamentul compuşilor de fier şi al porfirinei.

Dacă acest fenomen de reajustare este privit de această dată prin prisma teoriilor lui Monod în ceea ce priveşte structura proteinelor funcţionale, „allosterice", formate din subunităţi, reiese că în cazul hemoglobinei, în forma sa venoasă, cele patru lanţuri globinice sînt puternic ancorate între ele, deoarece în această formă afinitatea pentru oxigen este foarte slabă, şi că în forma oxigenată aceste legături se desfac, avînd drept consecinţă o creştere considerabilă a afinităţii pentru oxigen. Natura acestor legături chimice labile a fost elucidată de către Perutz şi colab.

Ei arată că de fapt molecula de hemoglobină în forma sa redusă este asemenea unui resort comprimat, iar în forma oxigenată ca un resort destins. Fixarea oxigenului pe molecula de hemoglobină nu se realizează deodată la nivelul celor patru atomi de fier din fiecare subunitate, ci treptat, în aşa fel încît unirea cu fiecare subunitate atrage după sine ruperea legăturilor saline ce ancorează subunitatea oxigenată de celelalte care se găsesc în forma redusă. Cînd toate subunităţile s-au combinat cu oxigenul, molecula de hemoglobină apare cu cele patru subunităţi ale sale desfăcute din punţile lor saline de ancorare. De exemplu : moleculele de hemoglobină care au legat două molecule de oxigen, pot să se găsească jumătate în forma arterială şi jumătate în forma venoasă, prezenţa subunităţilor oxigenate crescînd afinitatea pentru oxigen, deoarece ele reprezintă, de fapt, o fisură a moleculei de hemoglobină prin ruperea punţilor saline care le ancora de celelalte subunităţi (5, 25, 26).

Pornind de la modelul atomic al moleculei de hemoglobină, Perutz şi colab. au observat că în forma sa arterială cozile lanţurilor globinice puteau să se mişte liber, în timp ce în forma venoasă ele erau

Scanned with OKEN Scanner

puternic ancorate de subunitățile vecine. Această observație fizică tradusă în limbaj chimic arată că acidul aminat arginina, din lanțul alfa, și histidina, din lanțul beta, precum și penultimul aminoacid —

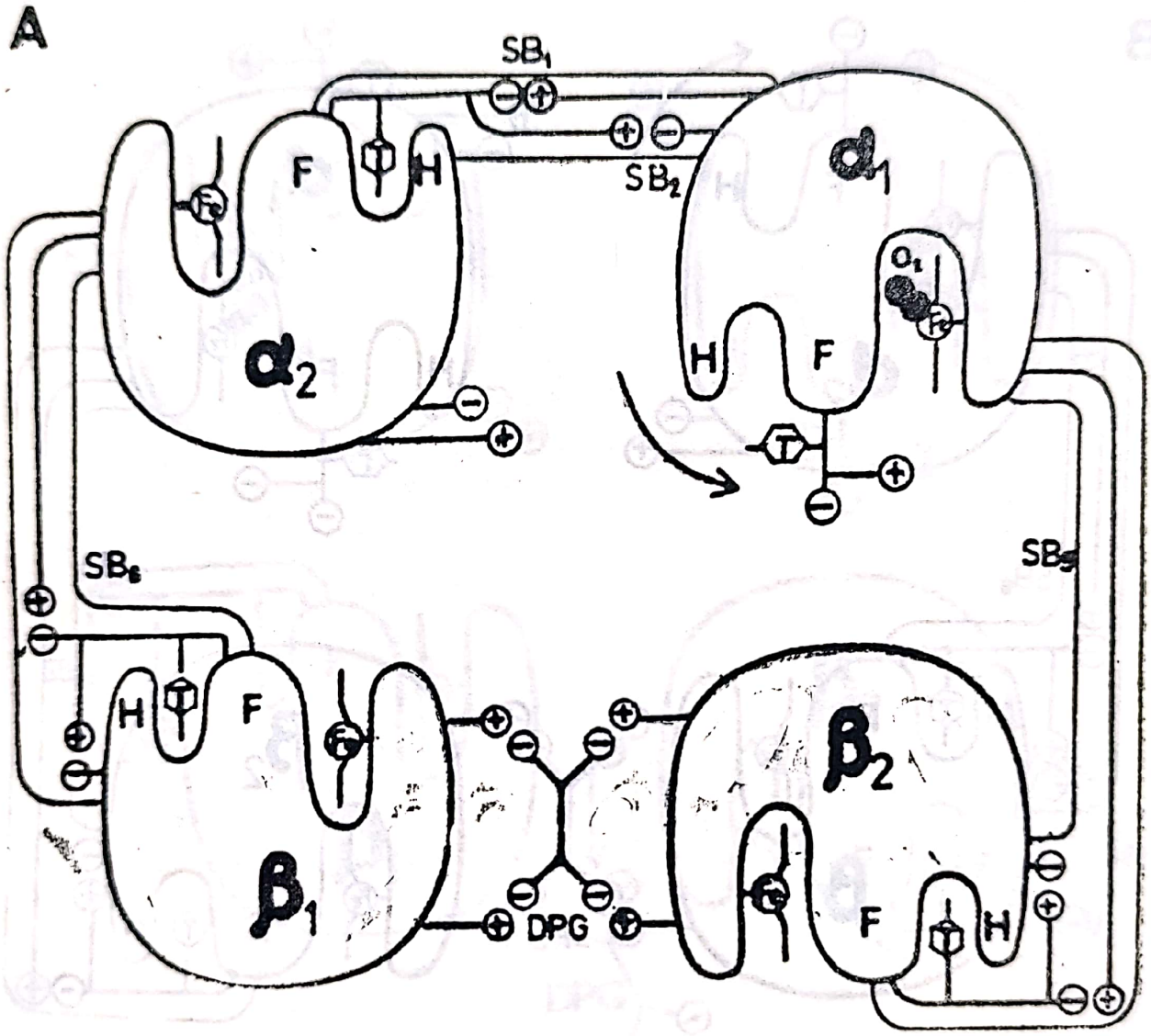


Fig. 41
Prima subunitate care reacționează cu oxigenul este probabil alfa$_1$. Puntea salină dintre lizină și ac. aspartic se rupe. Fierul ia poziția mediană în cadrul nucleului pirolic prin unirea cu o moleculă de oxigen. Tirozina iese din cavitatea formată de helixul H și F. (după Perutz).

tirozina, comun la toate cele patru lanțuri globinice, sînt libere de a lua diferite poziții în forma arterială.

În forma venoasă, tirozinele sînt puternic ancorate între două segmente ale helixului (H și F), argininele fiecărui lanț alfa formînd două punți saline cu grupele polare din lanțul alfa din vecinătate, histidinele formînd de asemenea două punți saline, una cu un grup polar al aceluiași grup beta și alta cu un grup polar al unui lanț alfa vecin.

Odată stabilit modelul spațial al hemoglobinei, rămînea de stabilit influența diferiților factori care acționează asupra afinității ei pentru oxigen, precum și influența asupra mecanismului de deschidere

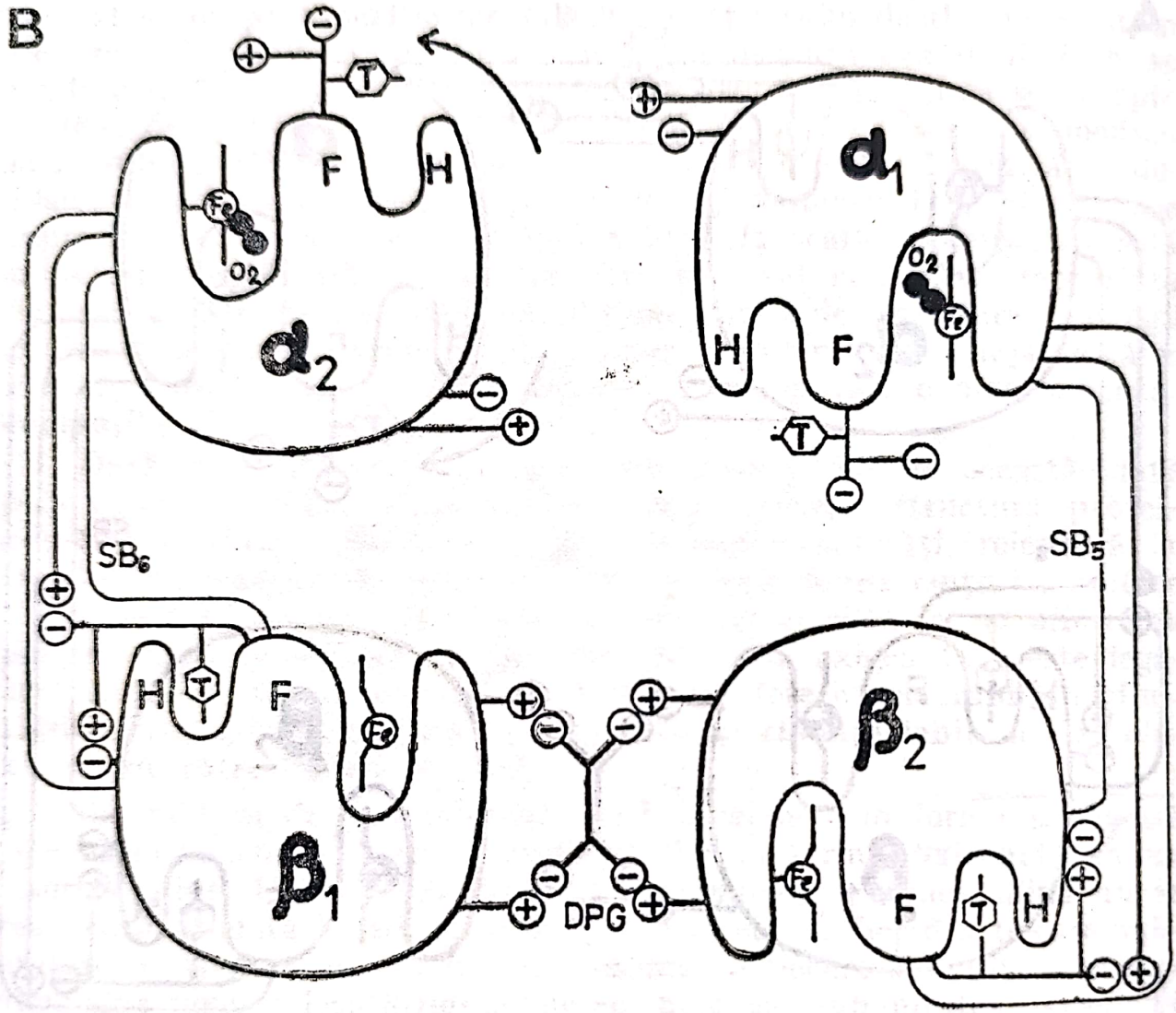


Fig. 42

A doua subunitate care acționează este probabil alfa$_2$. În această etapă se rup încă două punți saline între subunitățile alfa$_1$ și alfa$_2$. Tirozina subunității alfa$_2$ este trasă afară din cavitatea formată de helixul F și H permițînd unirea fierului cu molecula de oxigen (după Perutz)

și închidere a punților saline care ancorează subunitățile alfa și beta între ele. S-a stabilit astfel că prezența unei concentrații crescute de ioni de hidrogen într-o soluție în care este prezentă hemoglobina, tinde să stabilizeze legăturile saline și astfel să se opună combinării acesteia cu molecule de oxigen, pe cînd scăderea concentrației ionilor de hidrogen are drept rezultat labilizarea legăturilor saline, permițînd astfel combinarea cu oxigenul.

Scanned with OKEN Scanner

Un alt factor care intervine în reglarea afinităţii pentru oxigen a moleculei de hemoglobină este 2—3-difosfoglicerolatul ce se găseşte ancorat asemenea unui crampon între cele două unităţi beta. El poartă

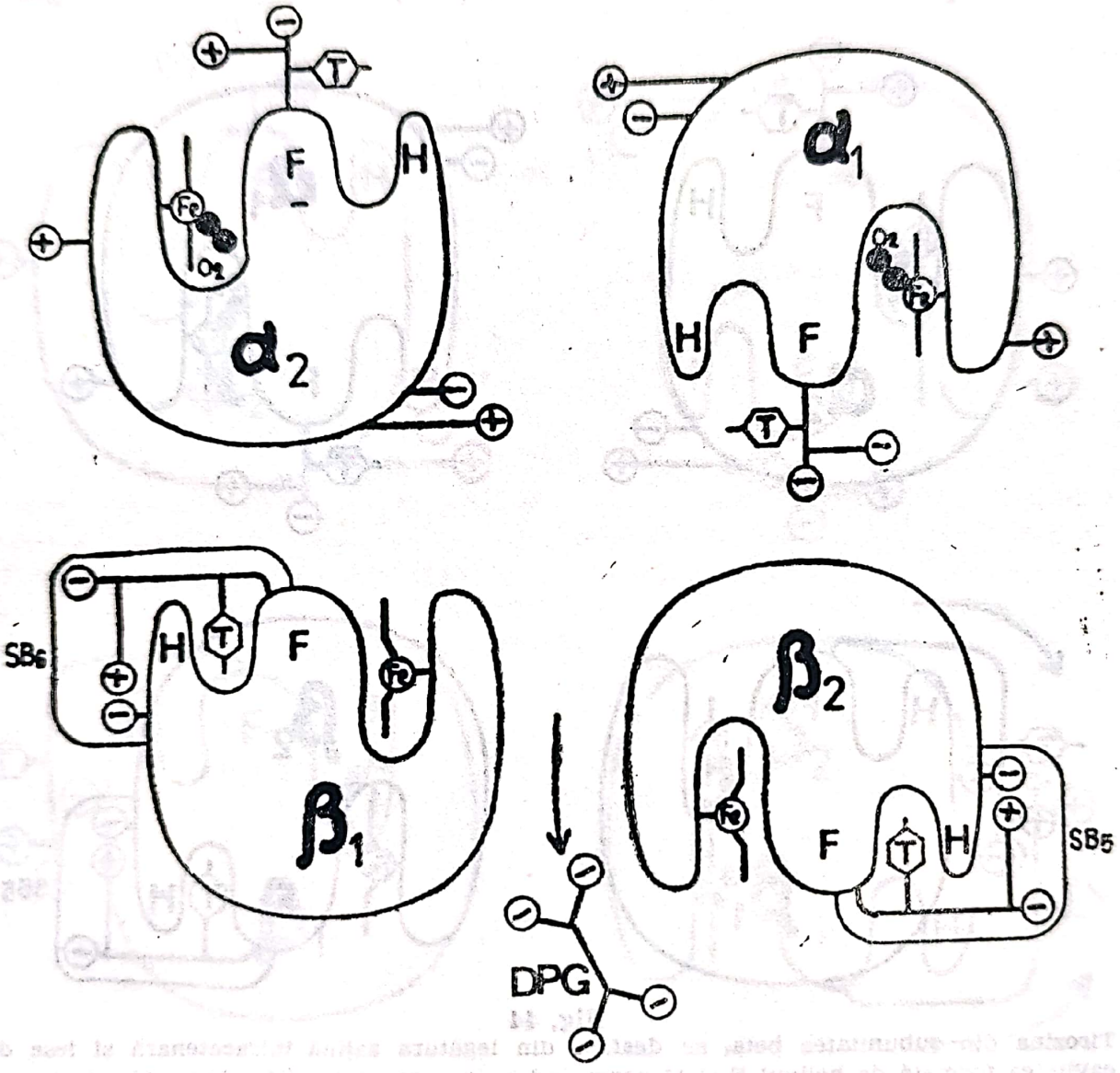


Fig. 43

Jumătate din molecula de hemoglobină este acum sub forma oxi. Urmează ruperea punţilor saline dintre subunităţile alfa$_2$ şi beta$_1$ şi subunităţile alfa$_1$ şi beta$_2$. D.P.G. este expulzat, rupînd legătura ce fixa subunităţile beta$_1$ şi beta$_2$. Molecula se găseşte sub forma intermediară (subunităţile alfa$_1$ şi alfa$_2$) şi jumătate sub forma desoxi (subunităţile beta$_1$ şi beta$_2$) (după Perutz).

echivalentul a patru încărcături electrice negative care se leagă de patru încărcături pozitive furnizate de aminoacizii cu care vine în contact în cavitatea centrală a hemoglobinei. În forma redusă, el se situează asemenea unui steker într-o priză ancorînd între ele cele două subunităţi beta. În forma oxigenată, legăturile 2—3-difosfoglicerola-

tului se desfac permițînd astfel moleculei de oxigen să interacționeze cu subunitățile beta.

Concentrația crescută a bioxidului de carbon diminuă de asemenea afinitatea pentru oxigen intrînd în competiție cu ionii de hidrogen și

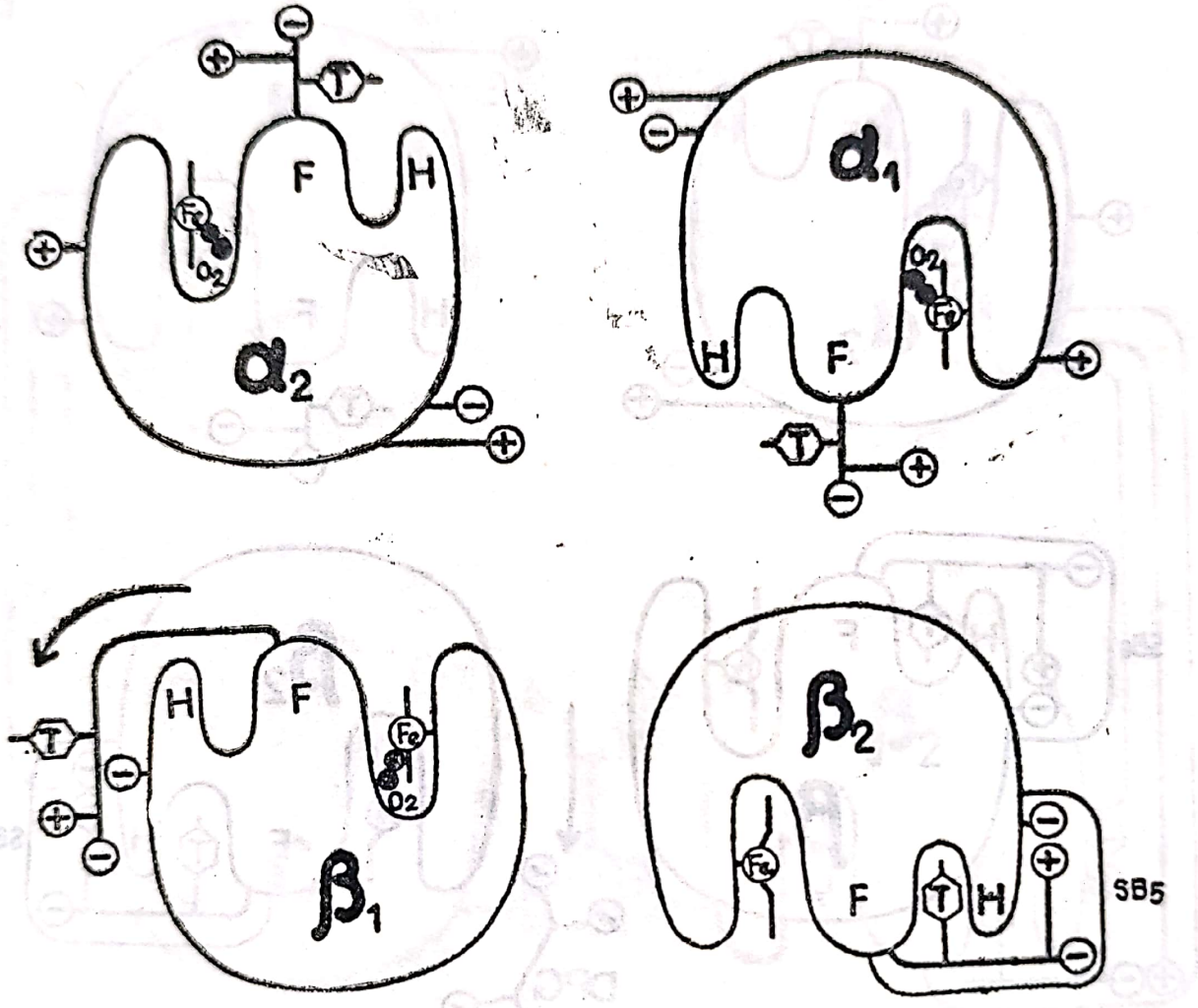


Fig. 44

Tirozina din subunitatea beta$_1$ se desface din legătura salină intracatenară și iese din cavitatea formată de helixul F și H permițînd oxigenarea subunității beta$_1$ (după Perutz).

cu 2—3-difosfoglicerolatul. Kilmartin și Rossi-Bernardi au dovedit că el se combină cu grupările aminate situate la sfîrșitul lanțului de globină ; totuși, încă nu s-a putut elucida mecanismul intim al acestei afinități crescute pentru CO_2, a formei reduse a hemoglobinei față de forma oxigenată, care are o slabă afinitate.

Ca o concluzie asupra celor expuse mai sus, se poate spune că molecula de hemoglobină apare ca o „mașină moleculară'' privită atît pe plan fizic cît și pe plan chimic. În concepția modernă a aplicării ciberneticii în biologie, ea poate fi considerată ca un ordinator minus-

cul capabil de a memoriza şi de a modela activitatea sa în funcţie de semnalele primite din mediul înconjurător, semnale ce sînt recunoscute şi traduse de anumite poziţii specifice. Subunităţile ce compun mo-

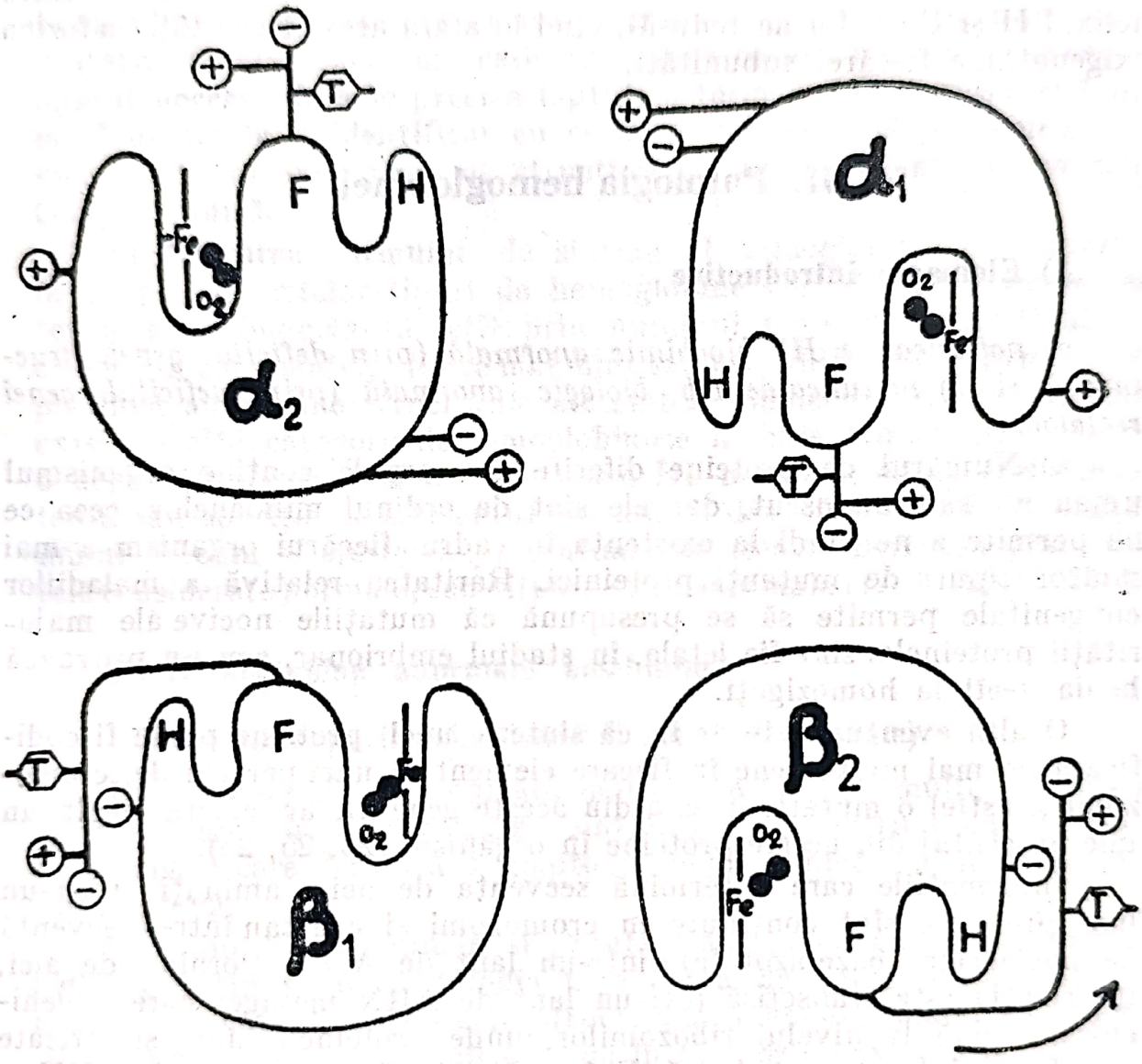


Fig. 45

În final cele 2 subunităţi beta$_1$ şi beta$_2$ captează fiecare cîte o moleculă de oxigen. Molecula de hemoglobină se găseşte acum sub forma total oxigenată, avînd structura quaternară oxi. (după Perutz)

lecula de hemoglobină sînt legate în ultimă analiză prin punţi saline între funcţiile NH_3^+ şi $COOH^-$ aparţinînd aminoacizilor. S-au imaginat 6 punţi de legătură între subunităţile alfa $_1$ şi alfa $_2$, alfa $_1$ şi beta $_2$ şi alfa $_2$ şi beta $_1$. Partea terminală a celor 4 lanţuri polipeptidice purtînd funcţia $COOH^-$ este liberă în forma oxigenată şi fixată la subunităţi în forma redusă. Legarea este realizată prin intermediul penultimului aminoacid al lanţului globinic, tirozina. Aceasta legătură joacă

și ea un rol fundamental în toate mecanismele de schimbare a configurației spațiale a moleculei de hemoglobină. Acest aminoacid are un ciclu Phenyl plat și o grupare OH^- și acționează întocmai unui comutator situîndu-se cînd în interiorul unei cavități formată de către helixul H și F (în forma redusă), cînd în afara acestei cavități (în forma oxigenată) a fiecărei subunități.

II. Patologia hemoglobinei

A) Elemente introductive

a) *noțiunea de Hb biochimic anormală* (*prin deficitul genei structurale*) *și b*) *noțiunea de Hb biologic anormală* (*prin deficitul genei reglatoare*).

a) Numărul de proteine diferite pe care le conține organismul uman nu este cunoscut, dar ele sînt de ordinul milioanelor, ceea ce ne permite a ne gîndi la existența în cadrul fiecărui organism a mai multor tipuri de mutanți proteinici. Raritatea relativă a maladiilor congenitale permite să se presupună că mutațiile nocive ale majorității proteinelor sînt fie letale, în stadiul embrionar, sau nu provoacă boala decît la homozigoți.

O altă eventualitate ar fi, că sinteza unei proteine poate fi codificată de mai multe gene în fiecare element al unei perechi de cromozomi și astfel o mutație în una din aceste gene nu ar afecta decît un mic procentaj din aceste proteine în organism (23, 25, 26).

Informațiile care determină secvența de acizi aminați dintr-un lanț proteinic sînt conținute în cromozomi și constau într-o secvență de nucleotide (baze azotate) dintr-un lanț de ADN. Pornind de aici, informația este transcrisă într-un lanț de ARN mesager care o vehiculează pînă la nivelul ribozomilor, unde proteinele sînt sintetizate specific cu informația primită. Există 61 de diferite triplete în ARN-ul mesager care codifică cei 20 de aminoacizi necesari sintezei proteinice. Dacă o bază anormală se găsește la nivelul ADN-ului, ea este de asemenea transcrisă anormal la nivelul ARN-ului mesager, fapt care are drept consecință o modificare a codului tripletei. De exemplu tripleta GAA care codifică acidul glutamic, atunci cînd prezintă anomalia de înlocuire a adeninei cu uracilul, prezentînd formula GUA, va codifica valina în locul ac. glutamic. În cazul hemoglobinelor anormale, Lehman a arătat că toate substituțiile de acizi aminați din lanțul globinic al hemoglobinei au drept cauză înlocuirea unei baze azotate din tripleta lanțului de ADN, care poartă gena structurală a hemoglobinei.

Scanned with OKEN Scanner

Bolile datorite unei hemoglobine anormale au fost descoperite fie prin anchete epidemiologice, folosind metoda electroforezei care detectează modificările încărcăturii electrice a moleculei de hemoglobină, fie prin examenul bolnavilor ce prezentau o simptomatologie hematologică. Aceste metode nu permit însă a se aprecia numeroasele mutații ale aminoacizilor care au o încărcătură neutră și de aceea a apărut necesar de a se preciza faptul că termenul de *hemoglobină anormală* nu poate fi identificat cu acela de *hemoglobină patologică*, deoarece nu toate anomaliile de structură au corespondent în simptomatologia clinică.

b) Alterarea ritmului de sinteză al hemoglobinei, a succesiunii în timp a diferitelor tipuri de hemoglobine considerate normale, este tot atît de importantă, atît prin numărul mare de subiecți afectați cît și prin consecințele clinice mai mult sau mai puțin grave. Prin urmare, pe lîngă anomaliile structurale ale sintezei moleculei de hemoglobină, există o altă categorie de hemoglobinoze în care Hb nu prezintă nici o deosebire structurală față de unele Hb normale, dar a căror persistență sau apariție în momentul biologic al dezvoltării adulte a organismului precum și creșterea procentuală în această perioadă peste limitele considerate normale, constituie o stare anormală (17, 19, 20, 21,24, 33).

B) **Hemoglobine anormale biochimic**

(Hemoglobinopatii prin deficitul genei structurale).

Printre cele 150 de anomalii moleculare ale Hb, multe nu au consecințe clinice, în timp ce altele sînt suficiente pentru a da naștere la heterozigoți care dezvoltă o simptomatologie clinică mai mult sau mai puțin gravă.

Încă din 1968, Lehman și Perutz s-au preocupat de a stabili o legătură între simptomatologia prezentată de către purtătorul anomaliei și eventuala modificare structurală a hemoglobinei. Ei observă că, dacă aminoacidul mutant se situa într-o poziție externă a modelului atomic al Hb, această anomalie nu era capabilă să determine o simptomatologie clinică evidentă la formele heterozigote. Dacă însă aminoacidul mutant avea o poziție situată în interiorul moleculei sau într-o adîncitură a helixului, se notau consecințele stereochimice capabile să genereze o anomalie decelabilă clinic.

O altă categorie importantă de substituire este aceea care interesează structura pungii hemului. Acesta este în conexiune cu aproximativ 60 de atomi ai lanțului de globină, proveniți din resturile de aminoacizi ce leagă hemul și nu permit intrarea apei în acest buzunar. Dacă una din aceste legături este înlocuită cu alta provenind de la un aminoacid mutant, se creează o fisură ce permite pătrunderea apei în

buzunarul hemului, avînd drept consecință expulzarea acestuia. Globina lipsită de hemul său devine instabilă, dînd naștere la precipitate în interiorul globulului roșu, care devine rigid și este mai ușor distrus la nivelul SRH. În acest fel se petrec lucrurile în cazul hemoglobinei instabile *Hemmersmith*, în care o serină înlocuiește o fenilalanină situată la intrarea buzunarului hemului.

În alte cazuri bolnavii suferă de tulburări respiratorii datorită afinității puțin pronunțate a hemoglobinei pentru oxigen. Ca răspuns la starea de hipoxie, măduva răspunde cu o producție excesivă de globule roșii. În ciuda numărului mare de hematii, acești bolnavi au o culoare albastră, deoarece o parte a hemoglobinei lor rămîne sub formă de carbohemoglobină, chiar în prezența unui exces de oxigen.

În cazul prezenței hemoglobinei anormale *Kempsey*, dimpotrivă, afinitatea pentru oxigen este crescută. Această anomalie este datorită înlocuirii acidului aspartic, care are o încărcătură electrică negativă, cu o asparagină avînd încărcare electrică neutră, la nivelul unei subunități beta. Prin această substituție se întrerupe o legătură de hidrogen pe care acidul aspartic o stabilește, în formă redusă, cu o tirozină aparținînd unei subunități alfa vecine. În oxihemoglobină, acidul aspartic este liber. Carbohemoglobina devine mai instabilă atunci cînd o pereche de legături de hidrogen dintre două subunități se pierd în timp ce oxihemoglobina rămîne neafectată. Ca o consecință a acestui fapt, forma redusă va trece mai repede în forma oxigenată, deci se poate spune că afinitatea pentru oxigen este crescută (6, 25, 26).

În cazul altei hemoglobine anormale, *Kansas*, o pereche de treonine înlocuiesc o pereche de asparagine la nivelul subunităților beta. În forma oxigenată a hemoglobinei, asparaginele stabilesc legături de hidrogen cu acizii aspartici ai subunităților alfa vecine pe cînd în forma de carbohemoglobină ele sînt libere. Treoninele mutante nu mai stabilesc aceste legături de hidrogen ceea ce are drept consecință creșterea concentrației hemoglobinei reduse și o afinitate scăzută pentru oxigen.

Deși legăturile de hidrogen sînt printre legăturile chimice cele mai labile, totuși pierderea acestor legături este capabilă să modifice echilibrul structurii unei molecule gigante cum este cea a hemoglobinei și să producă o simptomatologie clinică evidentă la purtătorii unei asemenea anomalii.

C) Hemoglobine biologic anormale

(Hemoglobinopatii prin deficitul genei reglatoare)

Este bine cunoscut faptul că în organismul uman, în timpul dezvoltării sale de la stadiul de embrion la stadiul de adult, predomină un anume tip de hemoglobină considerată ca normală pentru acel stadiu

Scanned with OKEN Scanner

de evoluție. Apariția lor în timpul dezvoltării organismului se desfășoară după cum urmează :

1. *Hemoglobinele embrionare* cunoscute sub numele de *GowersI* și *Gowers II*. Prezența lor a fost semnalată pentru prima dată de către Huens și colab. în 1961 prin electroforeze în gel de amidon. În stadiul de embrion de 1,6 cm care corespunde vîrstei de 37 de zile de gestație, concentrația lor în sînge este în jur de 42% pentru Gowers I și respectiv 24% pentru Gowers II din hemoglobina totală, restul fiind reprezentat de hemoglobina F (Hecht și col. 1966). Proporția lor în sînge scade progresiv pînă ce embrionul ajunge la aproximativ 6 cm, după care ele nu mai sînt detectabile. O a treia hemoglobină embrionară a fost comunicată la embrionul normal de către Kaltoya și colab. în 1966, Capp și colab. 1967, care a fost denumită hemoglobina *Portland*. Migrarea electroforetică a acesteia este foarte asemănătoare cu cea a hemoglobinei A, fapt care a făcut ca timpul de apariție și dispariție al ei să fie dificil de apreciat. A fost găsită în jur de 5—20% la embrionii mai mici de 3 cm, dar dispare definitiv după a 10-a săptămînă de gestație (Pataryas și Stamatoyannoupoulos 1972). S-a evidențiat faptul că Hb Gowers II este constituită din 2 lanțuri denumite epsilon și 2 lanțuri alfa, iar Hb Gowers I a fost considerată a fi formată dintr-un tetramer de lanțuri epsilon. Studiile efectuate asupra structurii hemoglobinei Portland (Capp și colab. 1967), au relevat faptul că ea este compusă din lanțul gama plus o nouă hemoglobină denumită „fi" (Capp și colab. 1967). Structura lanțurilor epsilon se aseamănă cu cea a lanțurilor beta, în timp ce lanțurile „fi" indică o structură asemănătoare cu cea a lanțurilor alfa (Capp și colab. 1970 ; Huehns și Farooqui 1975 ; Kamuzora și Lehman — 1975). Acest fapt sugerează că Hb Gowers I nu este de fapt un tetramer de lanțuri epsilon, ci ar conține două lanțuri „fi" și două lanțuri epsilon (Huehns și Farooqui 1975). Această concepție ar fi în concordanță cu datele funcționale ale hemoglobinei Gowers I, care indică o cooperare a lanțurilor în afinitatea lor pentru oxigen, proprietate ce nu a fost găsită la hemoglobinele cu tetramerie identică (5, 6, 14).

2. *Hemoglobinele fetale* sînt reprezentate prin hemoglobina denumită F. Ea a fost găsită prezentă la embrionul tînăr de 1,6 cm și crește rapid în concentrație către a 8-a săptămînă de gestație, reprezentînd peste 90% din totalul Hb, după care rămîne hemoglobina majoră pentru tot restul gestației. Structural ea este formată din două lanțuri alfa și două lanțuri gama. Analiza intimă a lanțurilor gama a descoperit că există cel puțin două lanțuri gama care diferă între ele prin prezența în poziția 136 a lanțului globinic gama, a glicinei sau alaninei (Schroder și colab. 1972). Proporția sub care se găsesc aceste două forme, numite gama G și gama A, este de 3/1 și acest raport se

menține mai mult sau mai puțin constant în timpul gestației (Nutt și colab., 1973). Alături de Hb F, au fost găsite de asemenea mici cantități de Hb A în timpul dezvoltării fetale. Demonstrația Hb A la feții tineri prin electroforeză a fost dificilă din cauza existenței Hb Portland (Kaltoya și colab., 1966), dar ea poate fi detectată pe un tampon citrat-gel la fetuși de 11 săptămîni sau mai mult de gestație (Patarays și Stomatouyanoupoulos, 1972). Cu metode mai sensibile pentru determinarea globin-sintezei, sintetizarea de Hb A a fost demonstrată la fătul de 6—8 săptămîni de gestație (Hollenberg și colab. 1972; Hasch 1972; Kan și colab. 1972; Kazazian și Woodheand, 1973; Wood și Weatheral 1973). Rezultatele acestor studii aduc o dovadă că proporția de Hb A sintetizată în acest timp este în jur de 5—10% din totalul hemoglobinei circulante (5, 6, 17).

3. *Hemoglobinele adulte* reprezentate prin Hb A și Hb A_2 și A_3, prima fiind un tetramer de două lanțuri alfa și două lanțuri beta, a doua fiind formată din două lanțuri alfa și două lanțuri delta, iar ultima reprezentînd o hemoglobină provenind din îmbătrînirea Hb A în eritrocitele adulte în care molecula de glutation se leagă de Hb A. Hemoglobina A_3 este considerată a fi o formă de îmbătrînire a Hb A_1. Rolul Hb A_3 în patologie este puțin cunoscut.

Deși hemoglobina A predomină în perioada post-natală, dominînd întreaga viață adultă a individului, sinteza ei începe încă din timpul vieții intrauterine, așa cum s-a arătat mai înainte. Mecanismele care guvernează schimbul de sinteză de la Hb F la Hb A, sînt puțin cunoscute pînă în prezent, dar majoritatea cercetărilor efectuate converg către un mecanism de represie asupra genelor care sintetizează hemoglobinele de tip fetal și de derepresie a genelor structurale ce sintetizează Hb de tip adult A.

Sinteza de Hb A_2 în timpul vieții fetale nu a putut fi decelată cu mijloacele de cercetare actuală. Prezența ei în sîngele de cordon ajunge la o valoare procentuală de abia 0,2% (Harton și colab., 1962; Karaklis și Feessas, 1963; Wilbon și colab., 1967). Măsurători minuțioase ale procentajului de Hb A_2 în sîngele de cordon au arătat valori foarte scăzute, rația lanțurilor beta-delta fiind de 100/1, față de rația de 40/1 observată în sîngele de adult. Acest fapt sugerează ideea că sinteza de lanțuri beta și delta nu este sincronă, argumentînd pentru un mecanism de control separat pentru sinteza celor două lanțuri non-alfa. După naștere proporția de Hb A_2 crește la adultul normal pînă la valoarea medie de 2,5% din totalul hemoglobinei circulante (Wilson și colab., 1967).

Cele mai frecvente anomalii ale ritmului de sinteză a lanțurilor globinice care constituie moleculele hemoglobinelor normale sînt așa-numitele sindroame talasemice. Alterarea ritmului de sinteză al

Scanned with OKEN Scanner

lanţurilor alfa determină apariţia alfa-talasemiilor, iar cea a sintezei lanţurilor beta, pe cea a beta-talasemiilor. Redăm, după Clegg şi Weatherall, clasificarea alfa-talasemiilor cu cîteva din cele mai frecvente anomalii biochimice ale lanţului alfa şi beta-talasemiilor (tabelul XVII şi XVIII) :

TABELUL XVII

Alfa-talasemia (15)

Tipul de talasemie	Homozigote	Heterozigote	Defectul molecular
Thal. 1	Hb. Bart 80%	Thal. minor 5—10% Hb Bart la naştere	deleţia ambelor gene alfa
Thal. 2	Thal. minor 5—10% Hb Bart la naştere	Thal. minor f. clinice mute 1—2% Bart la naştere	deleţia unei singure gene alfa
Hb Constant Spring	Thal. minor 5—6% Hb Constant-Spring.	F. clinică mută 1—2% Hb Bart la naştere.	Mutaţia lanţului alfa termin. poz. 142 Gin. UAA—GAA
Hb Icaria	nu s-a descris.	mută d.p.d.v. clinic 0,5—1% Hb Icaria.	mutaţia lanţului alfa poz. 142, Lys UAA—AAA
Hb Koya-Dora	nu s-a descris	mută d.p.d.v. clinic 0,5—1% Hb Koya-Dora.	mutaţia lanţului alfa poz. 142, Ser. UAA—UGA
Hb Seal-Rock	nu s-a descris	mută d.p.d.v. clinic 0,5—1% Hb Seal-Rock.	mutaţia lanţului alfa poz. 142, Glu—UAA—GAA.

În aceste sindroame talasemice producerea echilibrată de lanţuri globinice alfa şi beta este tulburată. Aşa cum s-a arătat de către numeroşi autori, manifestările hematologice din cadrul acestor tulburări reprezintă consecinţele directe ale anomaliilor de sinteză proteinică. Hipocromia eritrocitară este datorată diminuării producerii de molecule optime de hemoglobină, iar hemoliza crescută rezultă din precipitarea lanţurilor globinice nepereche rămase în exces. Acest exces de lanţuri proteinice se acumulează şi precipită alterînd membrana celulară a eritrocitului şi cauzînd o permeabilitate crescută pentru cationi, ceea ce conduce finalmente la distrugerea globulelor roşii (35, 36, 37, 38, 39, 40, 41).

Severitatea sindroamelor hematologice nu este corelată numai cu amplitudinea dezechilibrului de sinteză dintre lanţurile alfa şi beta ci şi cu anumite caracteristici ale acestor fracţiuni globinice. Astfel,

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL XVIII

Beta-talasemia (15)

Tipul de talasemie	Homozigotă	Heterozigotă	Defectul molecular
Beta° thal.	Anemia Cooley	Thal. minor	reducerea lanțurilor beta ale ARN. Cauză necunoscută.
Beta° thal.	Thal. intermedia Hb A+HbF+HbA$_2$ crescute.	Thal. minor creșterea Hb A$_2$	cauză necunoscută în prezent.
Beta°thal. (creșterea Hb F)	Thal. intermedia Hb A+Hb F+ +Hb A$_2$ crescute	thal. minor 5—12% Hb F 5—12% Hb F Hb A$_2$ crescute	cauză necunoscută în prezent.
Beta° thal.	Anemia Cooley Hb F + Hb A$_2$	Thal. minor Hb A$_2$ crescute.	absența ARN$_m$ pentru lanțuri beta; gene p. lanțul beta prezente. ARN p. lanțul beta prezent. Încetinirea sintezei de betaglobină
Beta° thal. (Ferrara)	Anemia Cooley Hb F + Hb A$_2$ crescute.	Nu a fost descrisă în detaliu.	
Delta-beta° thal.	nu s-a descris	modif. sanghine minime. Hb F + Hb A$_2$ normale.	neelucidat
Delta-beta°thal. Lepore	Anemia Cooley Hb F+Hb Lepore.	Thal. minor Hb A+Hb Lepore+Hb A$_2$ crescute.	delta-betafuzionare de dif. punți de *crossing-over* cu mai multe variante: — Hb Lepore — Washington — Hollandia — Baltimore lanțul ARN$_m$ instabil
Lanțuri alfa în exces.	nu s-a descris	Thal. intermedia: incluzii corpusculare Hb A$_2$ crescută.	neelucidat
Hb K Woolwich	nu s-a descris	Thal. minor: Hb A + Hb K, creșterea Hb A$_2$	sinteza de lanțuri beta ineficientă.

Scanned with OKEN Scanner

s-a observat de numeroși autori că lanțurile globinice alfa rămase în exces sînt mult mai instabile decît lanțurile beta, precipitînd mult mai ușor. Din contra, lanțurile beta sînt mult mai stabile și se pot asocia între ele, formînd un tetramer $beta_4$, așa-numita hemoglobină H, care are o solubilitate relativă, dînd naștere foarte rar la precipitate în citoplasmă (8).

III. Situația hemoglobinelor anormale pe teritoriul țării noastre

Pe teritoriul țării noastre, existența Hb anormale a fost pînă în ultimii ani puțin cunoscută. Cu excepția unor cazuri sporadice de anemie hemolitică Cooley, comunicate în diferite centre medicale ca București, Cluj, Iași, celelalte forme de hemoglobine anormale au trecut neobservate datorită faptului că, așa cum s-a arătat mai înainte, multe din aceste anomalii nu prezentau o simptomatologie clinică evidentă și mai ales lipsei unei metodologii de investigare specifică acestor tipuri de anomalii de sinteză proteinică.

Începînd din deceniul trecut, odată cu introducerea unor metode de investigare moderne, s-a putut dovedi că și pe teritoriul țării noastre există subiecți purtători de hemoglobine anormale, în special forme heterozigote, care, prin simptomatologia clinică redusă, scăpau atenției clinice. Prin numeroase lucrări publicate în țară și străinătate s-au comunicat următoarele tipuri de hemoglobine anormale :

Beta-talasemii homozigote (9, 29, 30, 31, 32)
Beta-talasemii heterozigote (10, 11, 42, 43, 46)
Nigremii-hemoglobinoză M (45)
Hemoglobine O Arabia (28, 32)
Hemoglobinoze S-siklemii (29, 30)
Hemoglobine instabile-Hemoglobina București (10).

Totodată, s-a stabilit frecvența hemoglobinelor anormale în anumite zone din provinciile Muntenia și Moldova, precum și filiația dintre cazuri, stabilindu-se prin pedigree-uri minuțioase existența anumitor zone cu o frecvență maximă în rîndul populației situate în special în partea sudică a țării, eșalonate de-a lungul bazinului Dunărean. Existența acestei anomalii hemoglobinice tip beta-talasemice a fost explicată ca fiind consecința unor amestecuri de populație de tip mediteranean în decursul anilor, cu populația autohtonă (10, 11, 28, 30, 31, 32), cît și prin existența în aceste zone a unor vetre puternic impaludate în trecut.

Deși pînă în prezent nu s-a putut stabili o legătură directă între intensitatea infestării malarice (din trecut) și frecvența crescută a he-

moglobinei anormale (găsită în prezent în anumite zone), totuși s-a arătat de numeroși autori că cele mai multe anomalii ale hemoglobinei se găsesc în acele regiuni de pe glob în care impaludarea este maximă, harta răspîndirii hemoglobinelor anormale suprapunîndu-se aproape pînă la identitate cu aceea a zonelor de maximă frecvență a infestării malarice (30, 31).

Și pe teritoriul țării noastre se pare că problema existenței hemoglobinelor anormale, în anumite zone, are același aspect. Cercetări în curs pe teritoriul Moldovei, efectuate pe grupuri mari populaționale, arată că frecvența genetică a beta-talasemiei trece de 1%, ceea ce permite a fi considerată o afecțiune cu extindere de masă (9, 10, 11).

Existența unor zone de maximă frecvență pe teritoriul Moldovei, la mare distanță de zonele de contact cu populațiile de origine mediteraneană, permite a se presupune că mixajul de populații s-a efectuat în decursul istoriei pe zone mult mai întinse, cuprinzînd întreg spațiul carpato-danubio-pontic, iar frecvența genei anormale s-a putut menține datorită unor condiții similare în ceea ce privește gradul de impaludare, în anumite zone din țara noastră, asemănătoare cu zonele mediteraneene infestate cu parazitul malaric, de unde provenea populația antrenată în mixaj. Trebuie menționat de asemenea și faptul că tipul de anomalie predominant pe teritoriul țării noastre este beta-talasemia, cu toate formele sale, situație asemănătoare cu cea existentă pe teritoriul Italiei și sudul Franței, și deosebită de alte zone mediteraneene (Grecia și Turcia), unde, pe lîngă formele de beta-talasemie, se găsesc destul de frecvent și cele de alfa-talasemie (tip de anomalie predominantă în Extremul Orient (4).

Un exemplu elocvent pentru susținerea celor de mai sus, ni-l furnizează și situația hemoglobinelor anormale de pe teritoriul Americii de Nord, unde majoritatea cazurilor de hemoglobină anormală depistate sînt legate de originea mediteraneană sau africană a subiecților purtători ai anomaliei.

De asemenea, autorii din țările din nordul Europei fac mențiunea aproape obligatorie, a ascendenței sau nonascendenței mediteraneene, a cazurilor sporadice de beta-talasemie, găsite în țările lor (5, 12, 13, 16, 34, 44, 47, 48).

În Franța, Orsini arată că frecvența în sudul țării a beta-talasemiei este mult mai mare decît se considera înainte și necesită o investigare sistematică, insistînd de asemenea asupra mixajului de populație cu locuitori originari din peninsula italică, mai intens în această zonă a Franței.

Pînă la ora actuală, existența pe teritoriul țării noastre a hemoglobinelor anormale, în special diferite forme beta-talasemice, nu ar putea fi explicate plauzibil decît prin amestecul de populație autoh-

Scanned with OKEN Scanner

tonă cu populație de proveniență mediteraneană-italică, cercetările dirijate în acest sens căpătînd valoarea unor adevărate prospecțiuni de arheologie genetică, capabile de a furniza argumente obiective, antropologice, cu implicații deocamdată imprevizibile, însă în orice caz semnificative în ceea ce privește problema originii populației din spațiul carpato-danubio-pontic.

BIBLIOGRAFIE

1. *Alperin J. B.*, Am. J. Med. Teh., 1969, *35*, 5.
2. *Amiconi G. et al.*, J. Biol. Chem., 1971, *246*, 1883.
3. *Anghelopoulos et al.*, Acta. Haemat., 1974, *52*, 321.
4. *Ayhan Ockuoglu et al.*, Acta Haemat., 1971, *45*, 312.
5. *Bank A. and Marks P.*, Med. Clin. North-America, 1973, *57*, 2.
6. *Benz et al.*, Progr. in Hemat., 1975, *9*, 107.
7. *Beuzard Y. et collab.*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 1972, *12*, 595.
8. *Beuzard Y. et colab.*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 1971, *11*, 61.
9. *Bratu și colab.*, Docum. Haemat., 1966, *2*.
10. *Bratu și colab.*, Stud. și Cerc. Med. Int., 1967, *8*, 263.
11. *Bratu și colab.*, XII Congr. Int. Haemat., New-York, 1978.
12. *Carrell R. W. and Kay R.*, Brit. J. Haemat., 1972, *23*, 615.
13. *Clegg J. B. et al.*, Nature, 1968, *220*, 664.
14. *Clegg J. B. and Weatherall D. J.*, Nature, 1968, *219*, 69.
15. *Clegg J. B. and Weatherall D. J.*, Brit. Med. Bull., 1976, *32*, 262.
16. *Engelhard D. et al.*, Brit. J. Haemat., 1975, *31*, 391.
17. *Forget B. G.*, Cell, 1976, *7*, 323.
18. *Jacob F. and Monod J.*, J. Mol. Biolog., 1961, *3*, 318.
19. *Jacobsen E. et al.*, Acta Med. Scand., 1975, *197*, 19.
20. *Jean Bernard et al.*, Ann. Rev. Méd., 1975, *26*, 345.
21. *Knox H. et al.*, Brit. Med. J., 1973, *21*, 150.
22. *Lowrence S. Lessin et al.*, Arch. Med., 1972, *129*, 306.
23. *Marti H. R.*, Helv. Med. Acta, 1969, *35*, 151.
24. *North M. L. et al.*, J. Med. Strassbourg, 1975, *6—9—10*, 531.
25. *Perutz M. F. et al.*, Nature, 1964, *203*, 4946.
26. *Perutz M. F.*, Bioph., 1964, *9*, 1.
27. *Perutz M. F.*, Brit. Med. Bull., 1976, *32*, 3.
28. *Predescu C. și colab.*, Pediatria, 1967, *2*, 109.
29. *Predescu C. și colab.*, Doc. Haemat., 1967, *2*, 115.
30. *Predescu C. și colab.*, Pediatria, 1967, *6*, 531.
31. *Predescu C. și colab.*, A II-a Conf. Naț. Hemat. 9—11 Oct., 1967, București.
32. *Predescu C. și colab.*, XII Int. Congr. Haemat., 1968, New-York.
33. *Raik Eva et al.*, Acta Haemat. 1976, *55*, 40.
34. *Reimer M. K. et al.*, Johns Hopkins Med. J., 1975, *137*, 257.
35. *Rowley P. T. et al.*, Nature New Biol., 1972, *239*, 234.
36. *Roberts P. D. et al.*, Proc. Royal Soc. Med., 1967, *60*, 723.
37. *Rosa J.*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 1971, *11*, 27.
38. *Schmidt R. N. et al.*, J. Lab. Ann. Cl. Med., 1975, *86*, 873.
39. *Suresh K. et al.*, Amer. J. Haemat., 1976, *1*, 23.
40. *Töntz O. et al.*, Hum. Genet., 1973, *20*, 321.
41. *Tolstoshev P. et al.*, Nature, 1976, *260*, 9598.

Scanned with OKEN Scanner

SINDROAME PARANEOPLAZICE HEMATOLOGICE

de George Popa şi Mioara Popa

Sindroamele paraneoplazice exprimă răspunsul foarte polimorf, în funcţie de organul care reacţionează, faţă de neo-organismul parazitar, care este tumora. Acest răspuns se naşte la interferenţa dintre biologia dizarmonică şi agresivă a neoplasmului şi biologia gazdei, care încearcă să menţină homeostazia.

Datorită locului principal pe care îl ocupă în apărarea organismului, datorită ubicuităţii sale, datorită bogăţiei şi mobilităţii particulare a aparatului său metabolic, sîngele împreună cu organele hematoformatoare constituie organul care prezintă cele mai variate modificări paraneoplazice şi cele mai semnificative pentru capacitatea defensivă a organismului.

Aflate în raport cronologic de precesiune sau simultaneitate cu procesul malign, dependente sau independente de existenţa de metastaze în organele hematopoietice, sindroamele hematologice paraneoplazice, în afară de importanţa lor teoretică, posedă o certă valoare diagnostică şi prognostică.

În cele ce urmează ne vom ocupa de modificările din măduva hematopoietică şi de sindroamele exprimate în sîngele periferic.

I. Reacţii paraneoplazice medulo-osoase (Conceptul de „atmosferă paraneoplazică medulară")

În cursul carcinoamelor de diverse origini, elementele celulare ale măduvei osoase suferă modificări cantitative şi calitative constînd pe de o parte din hiperplazie sau hipoplazii, disociate ori globale, pînă la aplazii, cu o variată gamă de trecere între ele, iar pe de altă parte din anomalii morfologice de diverse forme şi grade, pînă la a simula elemente maligne.

Studiind peste 500 de mielograme la bolnavi cu carcinoame variate, mai ales gastrice, bronhopulmonare şi hepatice, unul din noi a ajuns, în rezumat, la următoarele constatări (23, 24):

Scanned with OKEN Scanner

— au fost confirmate modificările menționate în literatură și anume : hiperplazia seriei eritroblastice ; hiperplazia seriei granulocitare cu tulburări de maturație, realizîndu-se așa-numita „măduvă promielocitară" ; plasmocitoză, eozinofilie ; (2, 6, 8, 14, 15, 18, 20, 25, 31) ;

— s-au identificat modificări nesemnalate anterior și anume: hiperplazie megacariocitară, gigantism celular al etapelor inițiale ale seriilor medulare, asincronism de maturație nucleo-citoplasmatic, anizocitoză mai ales a promielocitelor, activitate mitotică uneori intensă, interesînd seria eritroblastică și granulocitară ;

— de asemenea, s-a identificat o modificare particulară, constînd din *atipizarea secundară* nucleo-nucleolară a unor elemente ale mielogramei, privind : seria granulocitară (în primul rînd promielocitele), celulele „limforeticulare" și unele celule blastice. Această atipizare constă din : anizocitoză, anomalii nucleare (deformări, ancoșări, lobulări) și mai ales din dezvoltarea neobișnuită a aparatului nucleolar, cu nucleoli multipli, inegali, deformați, uneori giganți. Aceste modificări determină apariția de elemente blastice care pot simula celule maligne carcinomatoase, sarcomatoase sau leucemice (23, 24) (fig. 46, 47).

TABELUL XIX

Constelația citologică a „atmosferei paraneoplazice medulo-osoase" (G. Popa, 1966)

A) *Modificări cantitative*

- eritroblastoză
- „măduvă promielocitară"
- plasmocitoză
- hiperplazie „limforeticulară"
- eozinofilie
- deseori hiperplazie megacariocitară

B) *Modificări calitative*

- anizocitoză (mai ales promielocitară)
- anomalii ale granulațiilor promielocitare
- asincronism de maturație nucleo-citoplasmatic
- activitate mitotică crescută, interesînd
  - seria eritroblastică
  - seria granulocitară

C) *Atipizare secundară nucleo-nucleolară*

(deformări ale nucleilor și „boală a nucleolilor") privind :
- seria granulocitară (mai ales promielocitele)
- celulele „limforeticulare" hiperplaziate
- unele celule blastice care devin inclasabile

(pot simula celule maligne : carcinomatoase, sarcomatoase, leucemice).

Scanned with OKEN Scanner

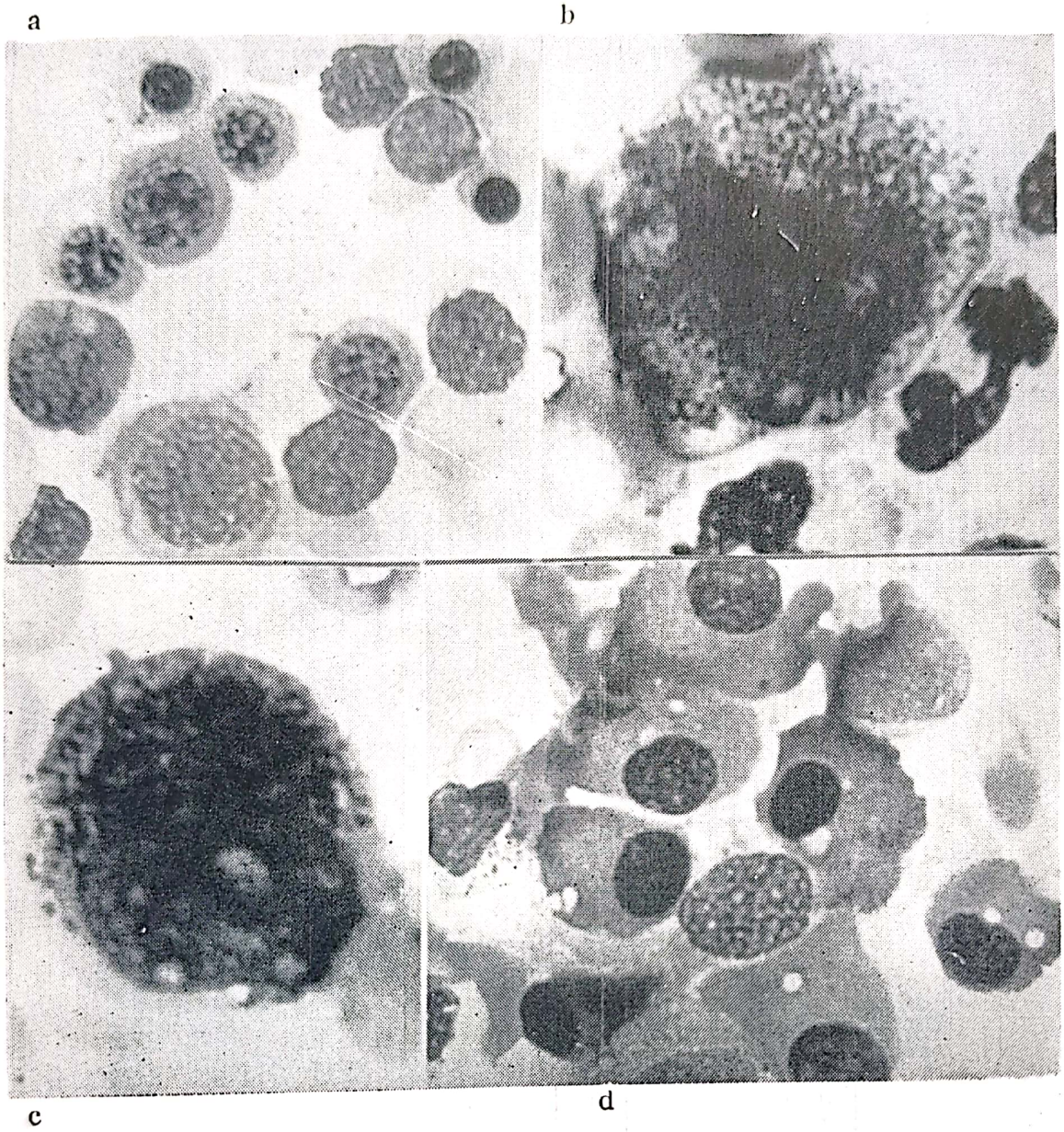


Fig. 46

Atmosfera paraneoplazică medulo-osoasă

a. Eritroblastoză (carcinom bronșic).
b. și c. Promielocite multinucleolate, cu granulații grosolane dispuse neomogen (carcinom gastric).
d. Cuib de plasmocite înconjurînd o celulă histiocitară (carcinom bronșic).

Scanned with OKEN Scanner

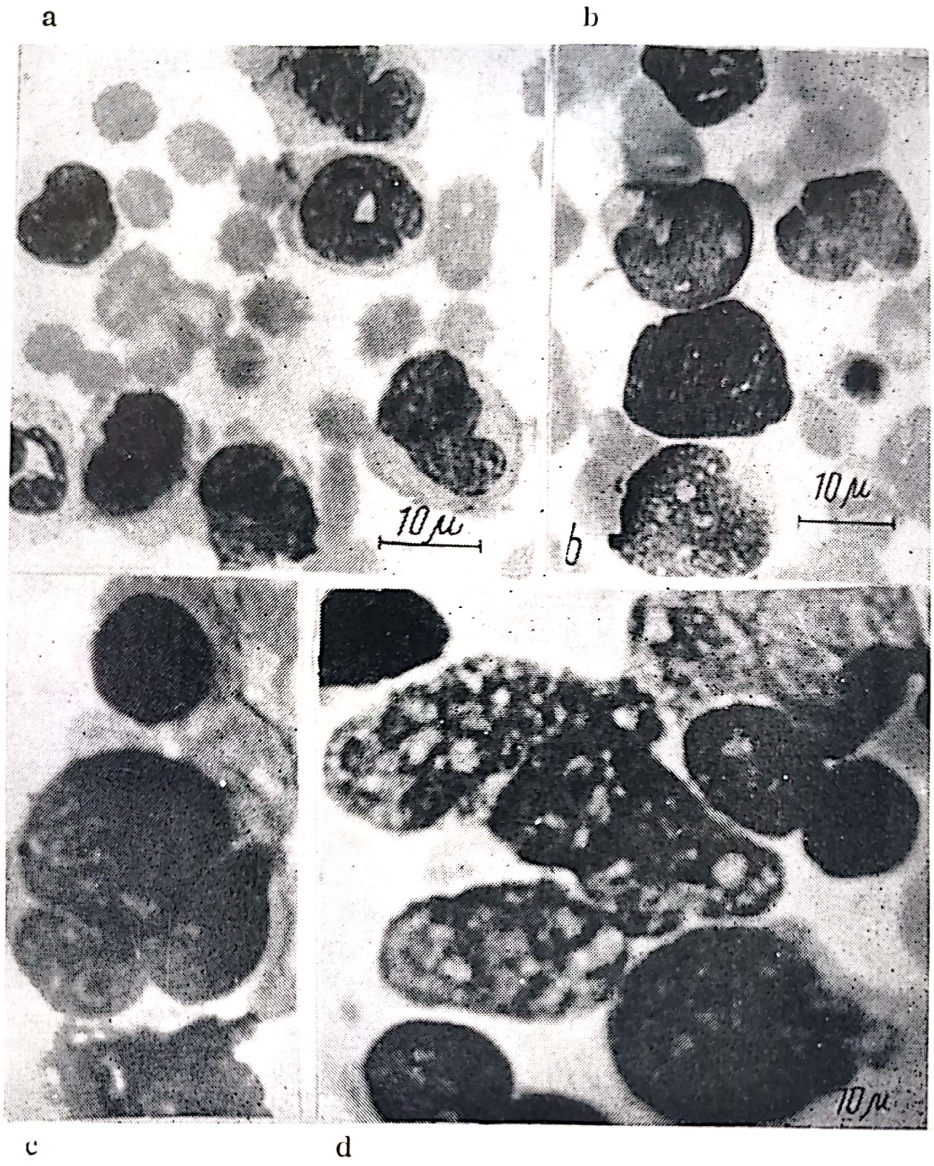


Fig. 47

Atmosfera paraneoplazică medulo-osoasă

ATIPIZAREA SECUNDARĂ A CELULELOR AUTOHTONE MEDULARE

a. Grup de celule riederiforme (carcinom mamar).
b. Celule blastice de aspect limfosarcomatos (carcinom gastric).
c. Celulă atipizată monocitoidă (carcinom bronșic).
d. Celule limforeticulare atipizate, simulînd un placard de celule carcinomatoase (carcinom bronșic).

Scanned with OKEN Scanner

Reunind modificările medulo-osoase cele mai frecvent întîlnite în cursul carcinoamelor și anume : modificări ale seriei granulocitare („măduvă promielocitară") cu anomalii nucleolare ; eritroblastoză ; hiperplazie „limforeticulară" cu anomalii nucleolare ; plasmocitoză ; blaști inclasabili atipizați secundar, — am denumit această constelație citologică *atmosferă paraneoplazică medulară*. Ori de cîte ori am întîlnit acest ansamblu celular, diagnosticul prezumptiv de carcinom a fost confirmat (tabelul XIX).

Semnificația mielogramei în carcinoame

Patogenic, „atmosfera paraneoplazică medulo-osoasă" constituie expresia procesului de apărare a mezenchimului față de agresiunea neoplazică. Ea ar putea fi asimilată reacției granulomatoase care are loc în boala Hodgkin față de celula tumorală Sternberg-Reed. În ceea ce privește atipizarea nucleo-nucleolară secundară a unor celule medulare, este probabil vorba de perturbarea unor sisteme enzimatice care afectează mai ales celulele cu potențial energetic ridicat. Trebuie de spus că m.o. „nu pare un mediu favorabil pentru dezvoltarea celulelor neoplazice" (19), reacțiile celulare amintite constituind o gamă variată de mijloace capabile să opună condiții neprielnice pentru colonizarea metastatică.

Din punct de vedere *diagnostic*, modificările cantitative și calitative suferite de celulele autohtone medulare sînt capabile să sugereze cu multă probabilitate prezența unui carcinom, fie la un bolnav cu o formațiune tumorală de origine neprecizată, fie la un bolnav cu manifestări clinice de cauză neclară.

În ciroza hepatică se poate de asemenea găsi o m.o. promielocitară, asociată cu plasmocitoză și anomalii nucleolare, dar lipsește eritroblastoza, iar modificările morfologice ale promielocitelor sînt nesemnificative.

Mai trebuie precizat că, dacă într-o măduvă hiperplazică modificările nucleare, tulburările de maturație pe linia granulocitară și plasmocitoza sînt deosebit de evocatoare pentru un carcinom, aceleași modificări într-o măduvă osoasă hipoplazică sînt mai puțin sugestive pentru etiologia neoplazică, tabloul citologic fiind confundabil cu modificări întîlnite și în insuficiența medulară de alte origini, mai ales insuficiența medulară idiopatică.

Marchal și Duhamel reunesc diversele modificări medulo-osoase din cursul carcinoamelor sub numele de „sindrom de iritație malignă a măduvei osoase" și-l consideră că reprezintă element caracteristic de însoțire a colonizării metastatice a m.o. Afirmația ni se pare exagerată. Dimpotrivă, noi considerăm că sindroamele paraneoplazice

cu măduvă osoasă hiperactivă nu sînt legate obligatoriu de prezența unor metastaze medulo-osoase constituite.

Din punct de vedere *prognostic*, cu cît hiperplazia medulară într-un neoplasm este mai intensă, cu atît ne aflăm într-un stadiu mai puțin avansat. Hipoplazia indică un stadiu tardiv, cînd măduva hematopoietică este fie invadată, fie „obosită", epuizată prin conflictul cu agresiunea toxică sau/și imunologică a neoplaziei.

„Atmosfera paraneoplazică" medulo-osoasă este de asemenea utilă pentru urmărirea efectului *terapeutic*. Diminuarea sau dispariția semnelor reactive indică un efect favorabil, în timp ce persistența sau accentuarea lor exprimă ineficacitatea tratamentelor instituite.

Subliniem că, așa cum relevă recent Hénon și colab., modificările calitative ale celulelor medulare nu pot fi studiate decît pe frotiuri. Anomaliile morfologice de finețe scapă examenului histologic, care nu poate oferi decît o imagine cantitativă, aproximativă, asupra celularității. În schimb, examenul pe cupe permite să se aprecieze prezența și intensitatea unei eventuale fibroze perimetastatice, aceasta constituind fie un semn de iritație, fie un semn de apărare a mezenchimului medulo-osos, de limitare a procesului invadant (14, 15).

II. Sindroame paraneoplazice în sîngele periferic

Vom distinge :
— modificări ale seriilor sanghine și
— tulburări ale hemostazei.

A) Modificări ale seriilor sanghine

Pot fi condiționate medular sau independente de modificările medulo-osoase.

A. Sindroame paraneoplazice periferice condiționate medular

ANEMII

1. *Anemii hiposideremice „inflamatorii"*. Sînt frecvente și se datoresc fixării fierului în SRH medulo-osos în cursul unor neoplazii. Coloratia Perls arată depunerea fierului în macrofagele medulare prezente în număr crescut. Captarea de către histio-monocite a fierului a fost explicată fie printr-o activitate de detoxifiere exercitată de către SRH, fie printr-o afinitate crescută a SRH pentru fier în caz de infla-

Scanned with OKEN Scanner

mații. În adevăr, aceste anemii apar deseori în caz de infecție cronică legată de cancer. Dar alteori ele survin independent de orice infecție supraadăugată. Sindromul inflamator, — manifestat biologic nu numai prin anemie hipocromă hiposideremică, dar și prin VSH accelerat, alfa-2-globulină și fibrinogen crescute, — este datorit în aceste cazuri iritației cronice exercitată de tumoră fie prin metastazele medulare, fie la distanță, pe cale umorală. Astfel de anemii apar mai ales în carcinomul renal. Mielograma, în afara proliferării de macrofage, nu arată modificări ale seriilor hematopoietice. Fierul seric este scăzut, dar spre deosebire de anemiile prin sîngerări cronice, capacitatea totală de fixare a fierului de către siderofilină este scăzută, iar coeficientul de saturare a siderofilinei este normal (27).

2. *Anemii megaloblastice.* Megaloblaști izolați se găsesc frecvent în m.o. a bolnavilor cu carcinom. Veritabilele anemii megaloblastice sînt rare (în carcinoame de sîn, stomac, prostată). S-ar datora lipsei de acid folic, posibil și a vit. B_{12}, la nivelul eritronului, prin consum competitiv de către celulele carcinomatoase, mai ales în caz de metastaze. La un cc. de proastată noi am obținut o regresare importantă a anemiei și dispariția megaloblastozei prin tratament cu vit. B_{12}. La un alt caz similar, anemia severă a regresat complet odată cu dispariția tumorii sub tratament hormonal.

3. *Anemii leuco-eritroblastice.* Reprezintă manifestarea hematologică cea mai evocatoare pentru originea carcinomatoasă. Ele constau în prezența în sînge a unui număr de eritroblași variind între 5—100% (în medie, 10 la 100 de leucocite). Marchal și Duhamel raportează un caz cu 12 000 eritroblași pe mmc, iar Piney, cu 52 000/mmc; de asemenea, se observă 5—10% (uneori mai mult) elemente granulocitare tinere; foarte rare elemente atipice, ca în boala Di Guglielmo. GR sînt în jur de 2 mil./mmc, iar GA aproximativ 20 000/mmc. Măduva osoasă se prezintă uneori cu activitate crescută, alteori este aplazică, înlocuită de metastaze. Metastazele ating electiv organele SRH.

Obișnuit, bolnavii au febră și splenomegalie discretă, dar alteori voluminoasă, creindu-se confuzie cu osteomielofibroza. Această reacție leuco-eritroblastică are o certă importanță diagnostică: o anemie neexplicată, asociată cu un grad de eritroblastoză periferică sugerează un carcinom latent. O eritroblastoză în sîngele circulant poate să apară foarte precoce în evoluția unui carcinom, uneori înainte de anemie, fapt care poate permite suspicionarea unui carcinom încă asimptomatic (Metzger și Levy cit. de 19; 17, 35).

Asocierea cu mielocite sau metamielocite este de obicei sugestivă pentru cancer metastatic.

Originea sindroamelor leuco-eritroblastice s-ar afla în redeșteptarea hematopoiezei embrionare splenice și hepatice, dar și de la nivelul

Scanned with OKEN Scanner

oaselor lungi, care se substituie măduvei osoase invadate metastatic şi sînt sediul unei hematopoieze inoperante, sau ar consta din simpla reactivitate a măduvei osoase la agresivitatea neobişnuită a unor carcinoame : stimularea măduvei prin invazia mecanică şi reacţie antigen-anticorp intramedulară faţă de celulele anormale. Erikson raportează două cazuri de anemii leuco-eritroblastice în carcinomul de prostată, care s-au remis complet după tratamentul hormonal al tumorii (10).

4. *Anemii sideroblastice.* Au fost semnalate foarte rar în cancere şi ar fi datorate unui deficit în piridoxină (27).

REACŢII LEUCOCITARE

1. *Reacţii neutrofile.* Sînt cele mai frecvente. Pot fi cu deviere la stînga şi cu leucocitoză între 10—20 000/mmc, rar peste 50 000, sau cu deviere la dreapta ; ultima este mai rară şi apare în carcinomul renal şi bronşic. Cauzele sînt diverse : necroză tumorală, inflamaţia sau infectarea neoplasmului, iritaţia carcinomatoasă a măduvei osoase, dereglare de origine pulmonară a leucopoiezei. S-a afirmat că neutrofilia este obişnuită în carcinoamele profunde chiar şi fără suprainfecţie şi metastaze, încît ar atrage atenţia asupra unui astfel de neoplasm în caz de neutrofilie cu origine incertă.

2. *Reacţii eozinofile.* Le-am întîlnit în 10% din cazuri, cifra PE variind între 8—12%. S-au semnalat însă valori mult mai ridicate şi cu hiperleucocitoză importantă : Uehlinger, —GA=107 000/mmc cu 72% PE ; Rohr (26) : 160 000 GA/mmc cu 85% PE. Se crează astfel sindroame de false leucemii cu eozinofile. Eozinofiliile mari au prognostic grav, fiind martore ale metastazării, în primul rînd hepatice.

Explicaţia eozinofiliilor ridicate ar fi : necroze tumorale întinse, mecanism alergic cu punct de plecare în proteinele anormale eliberate de ţesutul tumoral, prezenţa de metastaze medulare sau hepatice. La un carcinom bronşic a fost izolat un factor chimiotactic pentru eozinofile, fenomen analog celui întîlnit la nivelul mastocitelor în procesele anafilactice. Cum eozinofilele sînt antihistaminicele naturale ale organismului, este posibil ca factorul chimiotactic să fie de natură histaminică. Tumorile care se însoţesc cel mai frecvent de eozinofilii sînt cele localizate la stomac, bronşii, uter, rinichi, colon.

3. *Reacţii limfocitare.* Reacţiile paraneoplazice de tip limfoid sînt excepţionale. Fleischer raportează un carcinom hepatic cu 24 000 GA/mmc şi 83% limfocite (11), Dao şi col. (6) un alt caz cu 63 000 GA/mmc şi 84% limfocite. Leucocitozele limfocitare ar apare în caz de invadare metastatică a ganglionilor şi splinei (6). În caz de hiperleucocitoze limfoide foarte ridicate este însă posibil să fi fost în realitate carcinoame dezvoltate în cursul unor leucemii limfatice cronice, date fiind perturbările imunologice din această afecţiune.

Scanned with OKEN Scanner

4. *Reacții monocitoide.* Sînt foarte rare. Au fost semnalate de Barret (2). La un carcinom hepatic noi am găsit un procent de 32% histiomonocite în m.o. și 22% monocite în sîngele periferic.

5. *Sindroame pseudomielomatoase.* Plasmocitoza medulară este întîlnită în carcinoame în 50—90% din cazuri. Procentul plasmocitelor în mielogramă variază între 3—15%. Uneori cifrele pot fi mult mai mari, atingînd chiar 80% (5), mai ales în cazurile cu metastaze multiple. Plasmocitoza se poate exprima periferic printr-un sindrom hiperimunoglobulinemic (cresc mai ales alfa—2, mai puțin beta—și gammaglobulinele). În cazuri rare se pot întîlni și lacune osoase și albumine Bence-Jones, ceea ce creează mari dificultăți de diferențiere față de plasmocitom, cu atît mai mult cu cît s-au raportat asocieri carcinom-plasmocitom.

SINDROAME DE CITOPENIE GLOBALĂ SAU DISOCIATĂ

Sînt considerate paraneoplazice propriu-zise nu citopeniile prin substituirea metastatică a m.o., ci acelea consecutive siderării activității medulo-osoase datorită acțiunii iritative, toxice, a nodulilor tumorali. Prăbușirea tuturor celor trei serii este rară. De obicei se găsesc citopenii disociate. Tabloul cel mai frecvent îl constituie purpura trombocitopenică hemoragică.

TROMBOCITOZE

Ar constitui un semn important pentru existența unui carcinom, *putînd preceda uneori cu ani de zile* (6 ani într-un caz al lui Dao și colab.) diagnosticarea tumorii. Mecanismul lor nu se cunoaște. Davis, la 100 trombocitoze găsește 2 cancere diseminate, iar Levin și Conley (cit. de 32), la 82 trombocitoze peste 400 000/mmc, identifică 31 neoplazii cu localizări variate. Hiperplachetoze moderate se întîlnesc relativ frecvent în carcinomul bronșic (în 30—40% din cazuri); cea mai mare valoare din literatură pînă în 1977 este de 6 mil./mmc (32).

Pentru diferențierea unor astfel de valori foarte ridicate de trombocitemia primitivă se vor utiliza: aspectul normocelular al m.o., exceptînd un procent crescut de megacariocite plachetogene, absența splenomegaliei, normalitatea FAL, a vit. B_{12} serice, a acidului uric.

Hiperplachetozele neoplazice, asemeni tuturor hiperplachetozelor secundare, nu se însoțesc decît rareori de manifestări hemoragice, ca trombocitemiile primitive. Pentru tratamentul lor se poate încerca Myleran. În cazul menționat, cu 6 mil. plachete/mmc, Spigel și Mooney au administrat Melphalan. Aceiași autori au sugerat că tratarea tumorii determină revenirea la normal a plachetelor, fapt care demonstrează interferența neoplaziei în unul din momentele funcțio-

nale ale seriei megacariocitare. Cît timp se menține însă valoarea ridicată a plachetelor, se recomandă administrarea de aspirină (1 g/zi) asociată cu persantin (150 mg/zi) pentru prevenirea trombozelor. O altă medicație care se poate încerca este hidroxiureea.

B) Sindroame paraneoplazice hematologice necondiționate medular

1. *Anemiile hemoragice* prin sîngerări minime cronice intratumorale sau exteriorizate, sînt cele mai frecvente anemii neoplazice. Astfel de *anemii hipocrome microcitare hiposideremice* se întîlnesc mai ales în cancerul renal, uterin, gastric.

2. *Anemii hemolitice autoimune.* Pot constitui unica manifestare a unui neoplasm latent, apărînd uneori cu luni de zile înainte de manifestarea clinică evidentă: tumoră benignă ovariană în primul rînd, apoi cancer ovarian, gastric, prostatic, renal, mamar, pancreatic, timic). Tabloul hemolitic poate fi complet, inclusiv testul Coombs pozitiv și splenomegalie. Se pot ameliora sau vindeca după splenectomie, iar alteori regresează spontan. Dar de obicei sînt rezistente atît la corticoizi cît și la splenectomie, numai ablația tumorii fiind urmată de dispariția hemolizei patologice cu negativarea testului Coombs direct. În caz de tumoră benignă, vindecarea este definitivă (1, 13, 17).

Existența de autoanticorpi eritrocitari, secretați de tumoră sau la nivelul metastazelor ganglionare, demonstrează originea imună a unor astfel de anemii. Au mai fost incriminate de asemenea anomalii metabolice eritrocitare. Recent a fost descrisă o *anemie hemolitică microangiopatică*, întîlnită uneori în carcinomul mamar, gastric, bronșic, uterin, prostatic. Se observă schizocitoză, poichilocitoză, anizocitoză (2, 17). Se asociază de obicei cu trombocitopenie. Mecanismul hemolizei este extracorpuscular, fiind vorba de o deteriorare a hematiilor în contact cu tumora. Ar interveni și un proces de CIVD care provoacă microangiopatia (27). Coagularea intravasculară ar fi cauzată de mucina secretată de unele tumori, care prezintă proprietăți tromboplastice.

3. *Poliglobulii neoplazice.* Pot apare în hipernefrom sau tumoră benignă de rinichi, hemangioblastom cerebelos, hepatom malign, feocromocitom, fibrom uterin și foarte sporadic în carcinomul de ovar, tiroidă, uter, bronșii. Dacă pentru primele două localizări există explicația policitemiei (hipersecreție de eritropoietină), în celelalte neoplazii mecanismul este necunoscut. Unii autori au găsit totuși o creștere a eritropoietinei în carcinomul hepatic cu poliglobulie (21). Pentru hipernefrom s-a demonstrat regresarea poliglobuliei după nefrectomie, aceasta reapărînd în caz de recidive sau metastaze. Cît privește feocromocitomul, în cauză ar fi hipersecreția de androgeni și hormoni steroizi.

Scanned with OKEN Scanner

Această tumoră poate realiza uneori un tablou de sindrom mieloproliferativ cu triplă citemie : eritremie, hiperleucocitoză, hiperplachetoză.

4. *Sindroamele de osteomielofibroză cu hepatosplenomegalie mieloidă.* Apar foarte rar. Biopsia medulară constată o osteomielofibroză cu sau fără metastaze, iar puncţia splenică şi hepatică evidenţiază metaplazia mieloidă. În periferie se găseşte eritroblastoză şi mielocitoză. Evoluţia este în general lentă, dar s-au descris şi mieloscleroze canceroase acute. Confuzia cu OMF necanceroasă nu poate fi îndepărtată decît prin punerea în evidenţă a neoplasmului de origine (sîn, stomac, prostată, bronşii, pancreas) sau a metastazelor în biopsia medulo-osoasă.

Uneori, metaplazia mieloidă spleno-hepatică poate apare înainte de instalarea mielofibrozei şi în prezenţa unei măduve osoase bogate. Astfel de cazuri pun interesante probleme de patologie generală. La asemenea bolnavi metaplazia mieloidă nu mai reprezintă un fenomen secundar de supleanţă, o simplă adaptare funcţională consecutivă substituirii metastatice a hematopoiezei medulare, ci aceste două procese — invazia de celule neoplazice în măduva osoasă şi metaplazia mieloidă cu mielofibroză, apar drept procese concomitente, foarte probabil un mijloc de apărare a SRH faţă de atacul invadant, mai precis, drept răspuns la un factor humoral secretat de tumoră. La unul din cazurile noastre, un neoplasm de sîn cu metastaze medulo-osoase şi viscerale, dezvoltarea metaplaziei mieloide spleno-hepatice a coincis cu o surprinzătoare încetinire a ritmului evolutiv al afecţiunii maligne, în ciuda prezenţei metastazelor amintite. Variaţiile cantitative ale mielemiei au reflectat eficienţa tratamentului hormonal. La acest caz, metaplazia mieloidă a fost un indicator paralel sau poate chiar o expresie a mecanismelor de apărare anticarcinomatoasă. În legătură cu o posibilă apărare a „SRH“ mai amintim două fapte :

— în măduva osoasă, deseori celulele carcinomatoase suferă un proces de „atenuare”, de „banalizare”, pînă la a nu mai putea fi recunoscute ; este interesantă prezenţa unor coroane de eritroblaşti în jurul a 1—2 celule carcinomatoase. Se ştie, dealtfel, că eritroblastoza constituie una din componentele cele mai intense şi mai constante ale reacţiei medulare anticarcinomatoase ;

— cel de-al doilea fapt este următorul : splina nu primeşte metastaze carcinomatoase datorită, foarte probabil, prezenţei unui hormon antiblastic ; metaplazia mieloidă splenică apare ca un răspuns mai ales eritroblastic la o invazie masivă de celule maligne a cărei tentativă de colonizare eşuează pînă la urmă, atît prin prezenţa hormonului respectiv, cît şi prin eritroblastoza splenică.

Poate nu este prea hazardat să admitem că, aşa cum virusul îşi induce propriul său destructor, interferonul, un stimul comun, neoplazic, produce atît proliferarea tumorală cît şi mijloacele de apărare, aici metaplazia mieloidă.

Scanned with OKEN Scanner

O întrebare firească este însă următoarea : ce analogie se poate stabili între metaplazia mieloidă canceroasă și osteomielofibroza primitivă (OMF), denumită și „metaplazie mieloidă cu mielofibroză". Se știe că OMF constituie unul din sindroamele mieloproliferative cronice, alături de poliglobulia Vaquez, LGC și mieloza megacariocitară (trombocitemia primitivă). Ea este deci expresia unei proliferări neoplazice a SRH, dar cu potențialul evolutiv cel mai lent dintre sd. mieloproliferative cronice. În această lumină s-ar putea formula ipoteza că prezența metaplaziei mieloide canceroase constituie un proces tumoral competițional între un neoplasm epitelial și unul conjunctiv, ultimul cu geniu evolutiv lent, frenînd evoluția carcinomului.

5. *Anomalii imunologice ale seriei limfoide.* Sub acest termen au fost descrise gamopatii monoclonale (în special în cancerul de sîn, căi biliare, sigmoid, faringe), în absența unei invazii a organelor hematopoetice. Explicații propuse: existența unui virus oncogen comun, răspunzător atît de tumoră cît și de răspunsul imun; o permeabilitate anormală la antigenele membranare celulare induse de tumora primitivă ; un răspuns imun propriu cancerului (1). Semnalăm tot aici *leucopeniile*, care pot apare în caz de metastaze întinse, traducînd deficitul imunitar grav din acest stadiu (27).

B) **Tulburări ale hemostazei**

Pot fi perturbări ale plachetelor sau ale factorilor coagulării.

a) *Perturbări plachetare.* Relativ frecvente, dar rareori grave, ele exprimă fie invazia medulară, fie un proces de coagulare intravasculară diseminată (CIVD). Plachetopenii sub 20 000/mmc cu sîngerări severe, am întîlnit la două cazuri cu carcinom bronșic însoțit de metastaze osoase și viscerale multiple. Modificările plachetare *calitative* constau din : gigantism, anizocitoză, cromomer sărac, creșterea adezivității și agregabilității, deficit în factorul 3.

b) *Perturbări ale factorilor coagulării.* Unele carcinoame, în primul rînd cel prostatic, apoi carcinoamele mucipare (sîn, uter, ficat, bronșii, stomac, colon, pancreas, neuroblastom), cancerul epitetial sau al SNC pot determina, — prin punerea în circulație din celulele distruse a unor substanțe tromboplastice, procoagulante, — un sindrom de CIVD cu hemoragii grave (Durand și col., Samaha și col., Brugarolas și col., Maria Misz și col.). Am observat și noi un astfel de sindrom la un carcinom pulmonar, care deși întins, era încă necunoscut. Administrarea de heparină a determinat încetarea sîngerărilor (gingivoragii, purpură, epistaxis, hemoptizii) în interval de trei zile, cu normalizarea plachetopeniei și fibrinogenopeniei inițiale. Rezultate favorabile după tratament heparinic au fost relatate și de alți autori (Durand și col.).

Sînt autori care consideră că în unele carcinoame, mai ales cel de prostată, se pot elibera nu numai activatori ai coagulării, dar și

Scanned with OKEN Scanner

factori proteolitici, care ar determina fibrinoliză primară. Credem însă că în realitate, de cele mai multe ori, fibrinoliza este secundară unei coagulopatii de consum. Cercetarea datelor contradictorii din literatură rele ă acest fapt.

Dao și col. afirmă că în prezența metastazelor medulare (în carcinoamele de sîn, prostată sau bronșii) hemostaza este modificată: 10 din 18 cazuri au timpul de sîngerare prelungit, iar 9 din 22 de cazuri au indicele Quick sub 80%. Or, aceste perturbări reflectă existența unei CIVD latente. Este cunoscut încă din 1865, datorită lui Trousseau, că o tumoră poate maifesta, ca prim și unic simptom, o tromboză; Aceasta trebuie bănuită a fi de origine tumorală, mai cu seamă cînd are o localizare neobișnuită, cînd este migratorie sau multiplă, cînd recidivează, cînd este rezistentă la tratament și cînd nu există antecedente inflamatorii (Maria Misz și col.). Originea unei astfel de tromboze constă într-o CIVD ignorată. Sindromul ar fi mai frecvent la cazurile la care se găsesc celule tumorale în circulație (29).

În afară de importanța practică, tulburările hemostazei prezintă un interes deosebit teoretic, dată fiind corelația care se poate stabili între perturbarea coagulării și capacitatea de metastazare a tumorii respective. Avînd în vedere conținutul bogat în tromboplastină al celulelor canceroase, apariția microtrombilor vasculari în jurul celulelor carcinomatoase embolizate, constatarea că hiperlipidemia cu reducerea consecutivă a activității fibrinolitice crește numărul metastazelor în timp ce administrarea de heparină scade incidența metastazelor și că majoritatea celulelor tumorale care aderă de peretele vascular sînt distruse prin fagocitoză sau printr-un mecanism umoral, se presupune că procesul coagulării deține un rol cheie în aderența inițială a celulelor de endoteliul vascular și dezvoltarea metastazelor (34). Astfel, s-a demonstrat că ulcerul gastric determină o reducere a protrombinei și proaccelerinei, precum și intensificarea activității fibrinolitice a plasmei, exact invers față de ceea ce se întîmplă în cancerul gastric, unde tendința la hipercoagulabilitate (CIVD potențială) se asociază cu o frecvență crescută a metastazelor. În cele două cazuri prezentate de Misz și colab., cu CIVD gravă secundară unor tumori gastrice, necunoscute pînă în momentul apariției tulburărilor de hemostază, laparatomia a precizat existența unor metastaze masive ganglionare, splenice și hepatice (21).

Patogenia generală a sindroamelor paraneoplazice hematologice

Factorul cel mai larg admis este toxic iritativ, care ar fi exercitat de o substanță „hormon-like" secretată de tumoră sau rezultată din dezintegrarea țesuturilor canceroase. Ea a putut fi pusă în evidență în culturile tumorilor sau prin existența unui gradient de concentrație

Scanned with OKEN Scanner

arterio-venoasă a acestei substanțe între circulația aferentă și eferentă a neoplasmului. Au fost de asemenea incriminați : *carența unor factori* nutritivi eritropoietici (tiamină, acid folic, vit. B_{12}) consumați preferențial de celulele neoplazice (33) ; prezența unui *virus* supraadăugat ; preexistența unei *stări abiotrofice latente* (Demaille și col.).

Așa cum am menționat însă, ni se pare că factorul cel mai plauzibil este cel *imunologic*, diversele sindroame fiind expresia apărării SRH față de agresiunea neoplazică. Plasmocitoza, eozinofilia, complexul citologic al *„atmosferei paraneoplazice"* medulo-osoase, unele analogii între reacțiile medulare și modelele reacționale ale limfoganglionului, uneori influențarea favorabilă a evoluției bolnavului remarcată odată cu apariția unora dintre sindroamele paraneoplazice hematologice, demonstrează natura imunologică a majorității sindroamelor hematologice din cursul carcinoamelor.

În afară de interesul doctrinar, aceste sindroame prezintă și o certă importanță practică. Ele pot orienta diagnosticul către afecțiunea neoplazică respectivă atunci cînd contextul clinic exclude altă cauzalitate ; reflectă evolutivitatea tumorii și precizează caracterul acestei evolutivități ; de asemenea, regresarea sau persistența lor poate constitui un test de urmărire și apreciere a puterii de apărare a organismului cît și a eficienței tratamentelor aplicate.

BIBLIOGRAFIE

1. *Allard C.* Vie Médicale, 1977, *58*, 2817.
2. *Barrett Jr. O.* Amer. Fam. Physn/GP, 1970, *2*, 95.
3. *Bernadou A., Devred C., Diebold J. et al.* Sem. Hôp. Paris, 1972, *48*, 3443.
4. *Brugarolas A., Elias E. G., Takita H.* J. Med. (Basel), 1973, *4*, 96.
5. *Coste F., Bourgeois F., Delarue F.* Bull. Mém. Soc. méd. Paris, 1948, *64*, 361.
6. *Dao C. et collab.* Sem. Hôp. Paris, 1977, *53*, 1963.
7. *Dujardin P. et collab.* Sem. Hôp. Paris, 1976, *52*, 1441.
8. *Demaille A., Lefebre J., Cappelaere M.* Lille Méd., 1972, *17*, 830.
9. *Durand M. et collab.* Sem. Hôp. Paris, 1973, *49*, 199.
10. *Eriksson S., Killander J., Wadman B.* Scand. J. Haemat., 1972, *9*, 648.
11. *Fleischer J.* Zeitschr. Ges. Inn. Med., 1960, *186*, 506.
12. *Gajwant B., Zinner E. N.* New York St. J. Med., 1976, *76*, 2177.
13. *Gorin N. C. et collab.* Nouv. Rev. Fr. Hématol., 1974, *14*, 105.
14. *Hénon P. et collab.* Sem. Hôp. Paris, 1976, *52*, 695.
15. *Hénon P. et collab.* XV Congr. Intern. Soc. Haematol., Jerusalem, 1974, abstr. 1, 196.
16. *Hernandez M. G. et al.* Rev. Clin. Espan., 1976, *143*, 589.
17. *Leite C., Hoogstraten B.* CA, 1977, *27*, 88.
18. *Lüdin H. Die Organpunktion in der klinischen Diagnostik.* Karger, Basel, 1957.
19. *Marchal G., Duhamel G. Encyclop. Méd. Chir., Sang, II, 13 033 M*[10], 1961, 1—6.
20. *Mayer G., Maywer S. Encyclop. Méd. Chir. Sang.*, 1972, 1, 13 036 F 20.
21. *Misz Maria et al.* Med. Wschr., 1975, *117*, 287.
22. *Montalban C., Arnal P., Marin G.* Rev. Clin. Espan., 1976, *143*, 513.

Scanned with OKEN Scanner

23. *Popa G. Citologia organelor hematopoietice în neoplaziile maligne, Teză*, Iași, 1966.
24. *Popa G. Citodiagnosticul prin punctie în practica medicală*, Ed. Medicală, București, 1971.
25. *Rohr K., Hegglin R.* Dtsch. Archiv. klin. Med., 1936, *179*, 61.
26. *Rohr K. Das menschliche Knochenmark*, Ed. G. Thieme, Stuttgart, 1960.
27. *Rouèsse J.* Rev. Prat., 1978, *28*, 2735.
28. *Ruvidic R., Ivaneski M.*, Nouv. Rev. Fr. Hématol., 1970, *10*, 261.
29. *Salsbury A. J., White C., Tsolakidis P.* Surg. Gynec. Obstetr., 1973, *136*, 733.
30. *Samaha R. J., Bruns T. C. N., Ross Jr. G. J.* Arch. Surg., 1973, *106*, 295.
31. *Slager U. T., Reilly E. B.*, Cancer, 1967, *20*, 1215.
32. *Spigel St. C., Mooney L. R.* Cancer 1977, *3*, 339.
33. *Tchernia C. Vieu F., Parmentier C. et al.* Nouv. Rev. Fr. Hématol., 1974, *14*, 45.
34. *Tobelem G. M., Israel L., Caen J. P.* Path. Biol., 1974, *22*, 803.
35. *Weick J. K., Hagedorn A. B., Linman J. W.* Mayo Clin. Proc., 1974, *49*, 110.

Scanned with OKEN Scanner

O MARE URGENȚĂ HEMATOLOGICĂ : COAGULAREA INTRAVASCULARĂ DISEMINATĂ ACUTĂ

de **G. Popa**

S-ar putea spune că parcurgerea drumului suitor al cunoașterii științifice, al cunoașterii umane în general, are loc după două ritmuri.

Unul din aceste ritmuri este lent, progresiv, străbătut cu luciditate și perseverență, pas cu pas, prin silogisme îndelung meditate și verificate. Acest ritm al raționamentelor treptate a fost denumit de un psiholog american, John Platt, ritm *apolinic*.

Există însă și un alt ritm, de excepție : acela al parcurgerii verticale, printr-o revelație științifică, printr-o intuiție care permite străbaterea dintr-o dată a unei distanțe inapreciabil de mari.

Acest ritm de cunoaștere, Platt îl denumește *dionisiac*. El este rezervat unor momente alese, unor minți iluminate și el se află la originea marilor ipoteze științifice, a marilor noțiuni, a descoperirilor fundamentale care crează mutații în domeniul unei anumite științe. S-a afirmat că marile descoperiri sînt deseori niște accidente care întîlnesc un spirit pregătit ; pregătit printr-o importantă muncă de reflectare, conștientă sau subconștientă.

* * *

Într-un astfel de moment ales s-a aflat în 1959 și englezul Little. Little își ia grava răspundere a unui gest terapeutic care, după cunoștințele de pînă atunci, părea absolut contraindicat : el administrează unui copil cu *purpură fulminans*, heparină. Contrar așteptărilor, sîngerările intense sînt siderate și copilul este salvat.

În aplicarea actului său temerar, Little pornea de la supoziția că sindromul hemoragic respectiv nu se datora permeabilizării prin lezare toxică sau alergică a endoteliului vascular, ci consumului de plachete și factori ai coagulării, fibrinogenul în primul rînd, prin depunerea de cheaguri în microcirculația diverselor organe.

Căpăta astfel drept de cetate o entitate nosologică nouă : coagularea intravasculară diseminată (CIVD), denumită și coagulopatie de consum, sindrom de defibrinare sau coagulare mascată. Lucrări numeroase, printre care cele ale școlii din Heidelberg, ale lui Duckert și colab., ale lui Verstraete, Hardaway, McKay, Raby etc., au impus

Scanned with OKEN Scanner

apoi atenției clinicienilor realitatea acestui sindrom hemoragic particular, care poate interveni într-un număr foarte extins de afecțiuni și care îmbracă de multe ori un aspect clinic sever, tratamentul său cerînd deosebită subtilitate și nuanțare.

Sindromul de CIVD a cunoscut în scurt timp una din cele mai prodigioase cariere. Fascinantă prin finețea și ineditul mecanismelor pe care le implică, derutantă prin însăși esența ei, precum și prin jocul foarte mobil al desfășurării sale biologice, creînd astfel mari dificultăți diagnostice și terapeutice, CIVD a detronat în mare măsură fibrinoliza primară și constituie actualmente un capitol esențial al patologiei hemoragice și mai ales al reanimării medico-chirurgicale. Ignorarea realității și mecanismelor sale poate duce la erori terapeutice catastrofale, cu atît mai mult cu cît CIVD intervine în tabloul a numeroase urgențe a căror gravitate o suplimentează, crescînd apreciabil neșansele sfîrșitului letal.

Fiziopatologie (9, 10, 16, 24, 33, 43).

Coagulare intravasculară diseminată înseamnă producerea de trombi care obstruează microcirculația (capilare, arteriole și venule de calibru foarte redus) într-un teritoriu vascular foarte întins, practic în toată economia (dar fără ocluzia marilor vase).

Coagulopatie de consum înseamnă consumul de factori ai hemostazei în cursul depunerilor de cheaguri pe endoteliul vascular, aceste elemente fiind plachetele, fibrinogenul și factorii labili, consumabili, ai coagulării : proaccelerina, protrombina, factorul antihemofilic VIII. În schimb, există o integritate a factorilor stabili aflați normal în ser după coagulare, adică : proconvertina, factorul Stuart, factorul IX.

Sindrom de defibrinare sau defibrinogenare înseamnă dispariția fibrinogenului din circulație prin transformarea sa în fibrină, depusă la nivelul cheagurilor. În 1974, Bowie și Owen propun termenul de „coagulare intravasculară cu fibrinoliză".

În CIVD are loc un proces de activare exagerată și accelerată a reacțiilor în cascadă care au loc în procesul fiziologic al coagulării, reacții care duc la depuneri de cheaguri pe endoteliul arborelui vascular.

În esență, lucrurile se petrec astfel : sindromul începe de cele mai multe ori prin eliberarea în circulație a unei substanțe cu proprietăți tromboplastinice, coagulante, deci în stare să declanșeze mecanismul complex al coagulării ; ea duce la formarea de trombină ; aceasta, la rîndul ei, transformă fibrinogenul circulant în fibrină. Trombii formați se vor fixa în microcirculația tuturor organelor, astfel că în cazuri extreme, plasma circulantă seamănă cu serul, ca și cum ar avea loc o coagulare *in vivo* (16, 33, 43).

Scanned with OKEN Scanner

CIVD este definită astfel ca un *proces datorat prezenței de trombină în circulația sistemică*, urmare a activării generalizate a sistemului enzimatic capabil să-i dea naștere. Această definiție enzimatică este fundamentală, ea permițînd o perfectă delimitare nosologică. Trombina este o enzimă proteolitică, avînd multiple acțiuni care converg în complexul biopatologic al CIVD : formarea fibrinei, consumul de proteine plasmatice specifice, agregarea ireversibilă și pierderea de plachete, activarea sistemului fibrinolitic.

Trei tipuri principale de factori trombogeni, procoagulanți, activează sistemul de coagulare, inițiind procesul de CIVD : locali, circulanți și hemodinamici (10, 24, 33, 42, 43).

1. Factori trombogeni (procoagulanți) locali.

Aceștia pot fi vasculari sau aparțin altor țesuturi :

— factori trombogeni *vasculari* : orice lezare sau alterare a endoteliului vascular, — traumatică, toxică, inflamatorie sau imunologică, — favorizează o activare a *sistemului extrinsec* prin expunerea colagenului subjacent, astfel : colagenul denudat permite pe de o parte activarea factorilor care favorizează depunerea de plachete și agregarea lor, pe de altă parte crează condiții de adezivitate a plachetelor ; în al treilea rînd, celulele endoteliale lezate eliberează tromboplastina extrinsecă, aceasta determinînd formarea de trombină ; trombina va cataliza diversele reacții enzimatice care accelerează procesul de coagulare intravasculară ; de asemenea, leziunile endoteliale pot afecta sinteza și eliberarea factorului activator al plasminogenului, ceea ce potențează blocarea cu fibrină a microcirculației în CIVD (21, 22) ; exemple de acest mecanism : *purpura fulminans*, sindromul Waterhouse-Friederichsen, septicemii, embolii pulmonare multiple ;

— *factori trombogeni (procoagulanți) tisulari* : leziunile diverselor țesuturi, cum ar fi: vătămări traumatice întinse, operații pe torace sau prostată, necroze tumorale, fracturi multiple, — eliberează tromboplastină tisulară și activează în modul acesta *sistemul intrinsec* al coagulării.

2. Factori trombogeni (substanțe procoagulante) circulanți.

Aceștia pot fi de origine sanghină sau de altă proveniență și acționează prin activarea ambelor sisteme ale coagulării, atît intrinsec cît și extrinsec.

Scanned with OKEN Scanner

Este vorba aici, pe de o parte, de lezări ale hematiilor și plachetelor, iar pe de altă parte de substanțe coaguloactive intrate în circulație și avînd diverse origini, așa cum vom vedea în detaliu mai departe. Cît privește *elementele figurate ale sîngelui*, ele pot declanșa CIVD prin două mecanisme :

— formarea de agregate (*sludges*) eritrocitare, asociate sau nu cu agregate trombocitare, cauzate de : policitemii și trombocitoze, modificări de formă și volum ale hematiilor, hipo- și hiperpirexie, creșterea unor fracțiuni globulinice (în inflamații, ciroze, disglobulinemii, mielom), a fibrinogenului, catecolaminelor, serotoninei, bradikininei, histaminei ; pot interveni de asemenea substanțe lipidice (trigliceride, acizi grași), metabolice (ATP, ADP, acid lactic), alcoolul etilic, trombinomimeticele, veninurile de șarpe, unele peptidaze ca tripsina ;

— pe de altă parte, cînd sînt alterate, elementele figurate ale sîngelui eliberează în circulație substanțe cu virtuți tromboplastinice, în primul rînd de origine eritrocitară (eritrocitina din stroma hematiei) în cursul hemolizelor intravasculare ; leucocitele eliberează de asemenea substanțe procoagulante, mai ales granulocitele. În plus, leucocitele eliberează un număr de enzime cu rol accelerator asupra coagulării, iar hematiile și trombocitele eliberează ADP, care permite o funcționare optimală a ambelor sisteme, intrinsec și extrinsec, și potențînd agregabilitatea plachetară.

3. Factori trombogeni hemodinamici

Încetinirea microcirculației, adică *staza* de diverse origini, favorizează depunerea endotelială de plachete și oferă răgazul necesar pentru dezvoltarea reacțiilor enzimatice coagulante, creind astfel condițiile pentru apariția de microtrombi. Staza poate fi cauzată de o decompensare cardiacă, hemoragii, colaps, hipovolemie, vasoplegie neurogenă, creștere a hematocritului, hipervîscozitate plasmatică, obstrucție vasculară mecanică sau funcțională (spasm), dilatare patologică a vasului (anevrism, varice). Stazei i se poate adăuga anoxia și acidoza, care potențează apariția trombozelor.

Aceste trei ordine de factori deseori se asociază, satisfăcînd astfel teoria plurifactorială a CIVD, care presupune intrarea în joc a cel puțin doi factori, al căror produs final va fi trombina (10, 43).

Schematic, fenomenele biopatologice din cursul CIVD se desfășoară în trei timpi (10, 16, 33, 43):

1. În prima fază (foarte scurtă în cazurile chirurgicale și obstetricale) are loc instalarea unei *hipercoagulabilități* de intensitate crescîndă, provocată de cele trei mecanisme amintite, lucrînd fie izolat, dar de obicei asociat. Activarea generalizată a sistemului enzimatic

Scanned with OKEN Scanner

al coagulării duce la formarea trombinei. Aceasta va transforma fibrinogenul în fibrină. Este începutul procesului *trombotic*.

2. Faza a doua corespunde biologic unei *coagulări masive* prin formarea de microtrombi de fibrină diseminați în microcirculație. Este perfectarea momentului trombotic al bolii, cu apariția de tromboze și necroze multiple. Formarea trombilor consumă plachete și factori plasmatici ai coagulării (fibrinogen, protrombină, activatori), aceste elemente fiind integrate în cheag.

Rezultă astfel o sărăcire a sîngelui în trombocite și factorii amintiți (exprimată prin plachetopenie, scăderea timpului de protrombină și a fibrinogenului). Se ajunge în felul acesta la *hipocoagulabilitate* cu sîngerări consecutive. Este momentul *hemoragic* al CIVD. Intervine, de asemenea, stocarea pînă la saturație a SRH-lui cu factori ai hemostazei, printre care plachete și fibrina formată în exces, cu spolierea consecutivă a sîngelui, ceea ce suplimentează hemoragiile.

3. În faza a treia apare o *fibrinoliză reacțională*. Numită și *secundară*, această fibrinoliză suplimentează hemoragiile. Fenomenele se înlănțuie astfel: depozitele de fibrină diseminate în microcirculație declanșează eliberarea de către endoteliul vascular sau țesuturile lezate, de activatori care transformă plasminogenul (fixat fiziologic de fibrină, — care-și poartă astfel cu sine propria negație) în plasmină, iar aceasta declanșează sistemul fibrinolitic, descompunînd trombii enzimatici de fibrină în produși de degradare solubili (PDF). Ca urmare, circulația locală a organelor este din nou refăcută, vasele se repermeabilizează, ceea ce constituie un efect salutar, necesar, dar prin circulația restabilită trec în torentul sanghin PDF. Or, unele din aceste produse de degradare au o puternică acțiune inhibitorie asupra coagulării. Cînd raportul PDF/fibrină este ridicat, ultima este împiedicată să polimerizeze în insule de cheaguri, iar monomerii săi vor circula sub formă de complexe solubile cu fibrinogenul și PDF.

Astfel, PDF și plasmina acționînd pe un mare teritoriu microcirculator, produc o fibrinoliză intensă. Sîngele devine incoagulabil. Urmează agravarea hemoragiilor pînă la intensități cataclismice.

Dualismul dintre coagularea patologică a sîngelui circulant și hiperfibrinoliza activă alcătuiește temeiul bioenzimatic al sindromului de coagulare intravasculară diseminată.

Se observă ușor eroarea de tratament care se poate face prin administrarea de cantități masive de sînge în CIVD : se aduce un aport de factori ai coagulării care alimentează procesul de coagulare patologică precum și un aport de plasminogen care accelerează fibrinoliza.

Scanned with OKEN Scanner

Circumstanțe etiologice în funcție de mecanism în CIVD

Sistematizînd diversele circumstanțe și mecanisme care pot interveni în producerea unei CIVD, Verstraete clasifică astfel condițiile etiopatogenice ale sindromului (43) :

— introducerea în circulație de substanțe cu acțiune procoagulantă ;

— echivalențe ale fenomenului Schwartzmann-Sanarelli ;

— existența unei microcirculații încetinite într-un pat capilar alterat.

1. *Introducerea în circulație de substanțe cu proprietăți tromboplastinice*, coaguloactive, are loc în variate condiții patologice :

— în primul rînd, în unele circumstanțe *obstetricale*, unde diagnosticul de CIVD trebuie cel mai frecvent evocat și anume : embolia lichidului amniotic, dezlipirea prematură a placentei, sindromul fătului mort, mola hidatiformă, transfuzia feto-maternă intrauterină (cu hemoliză și eliberare de substanțe lipidice cu proprietăți procoagulante din hematiile distruse), *placenta praevia*, hemoragii retroplacentare, eclampsie ;

— în unele împrejurări *chirurgicale*, de asemenea se poate elibera în circulație un bogat material tromboplastinic, ca de exemplu în : chirurgia toracică cu delabrări întinse sau cu circulație extracorporeală, arsuri, embolii grăsoase, anastomoze portocave, necrozele tunicii medii ale aortei, anevrisme rupte, pancreatite acute, infarcte hemoragice ;

— *stările de șoc* (traumatic, hemoragic, endotoxinic, septic, anafilactic, transfuzional etc.), comportă prezența în circulație de substanțe procoagulante de origine tisulară sau bacteriană, care duc la hipercoagulabilitate ; se adaugă : încetinirea circulației prin hipotensiune, anoxia, alterările vasculare, denudarea colagenului ; de asemenea, blocarea microcirculației cu agregate (*sludges*) eritrocitare, plachetare și leucocitare, agregări favorizate de încetinirea fluxului capilar ;

— diversele *stări hemolitice intravazale* realizează prototipul de CIVD prin substanțe tromboplastinice eliberate în circulație, cum se întîmplă în : hemoglobinuria paroxistică nocturnă Marchiafava-Micheli, anemii hemolitice dobîndite, favism, hemoglobinopatii, anemia cu celule în seceră, incompatibilitate Rh ;

— în *hemopatii maligne* (mielom, leucemia acută promielocitară), neuroblastom, în unele carcinoame, mai ales adenocarcinomul mucipar (pulmonar, uterin, prostatic, gastric, pancreatic) ale cărui celule trimit în circulație substanțe similare tromboplastinei tisulare ; aceste carcinoame se pot însoți de flebite recidivante, tromboze cerebrale, endocardită a inimii drepte ;

Scanned with OKEN Scanner

— *leziuni endoteliale grave și întinse*, întîlnite în emboliile pulmonare, tromboza venei renale, pot duce la CIVD prin trimiterea în circulație a tromboplastinei din endoteliul alterat ;

— *în policitemii* intervin trei factori : staza sanghină, trombocitoza și un aport tromboplastinic datorat creșterii valorii globulare și unei distrugeri importante a hematiilor ;

— în *pancreatita acută hemoragică*, un proces de CIVD poate fi declanșat de către tripsina circulantă care ar activa factorul de contact, accelerina și factorul X ; de asemenea, o peptidază cu potențial hipercoagulant s-ar afla în sîngele acestor bolnavi ;

— *veninurile* de viperă pot provoca o CIVD printr-o substanță de tip tromboplastinic pe care o conțin.

2. *Echivalențe clinice ale fenomenului Schwartzmann-Sanarelli*

După cum se știe, dacă se administrează la iepure la interval de 24 ore două injecții intravenoase dintr-un filtrat de culturi de bacili Gram-negativ (endotoxină), animalul moare prin șoc ireversibil. Histologic se constată hemoragii viscerale difuze și obstruarea microcirculației de la nivelul mușchilor, cu fibrină.

Mecanismul este următorul : prima inoculare determină, pe lîngă o plachetopenie și leucopenie, o scădere a fibrinogenului cu precipitarea fibrinei în microcirculația mușchilor și a numeroase organe. De fapt, prima injecție determină o fază de hipercoagulabilitate cu activarea diferiților factori ai coagulării care sînt captați în SRH. La a doua injectare, SRH fiind saturat, factorii coagulării activați în timpul acestei de a doua faze nu mai sînt captați și sechestrați și provoacă o CIVD, de cele mai multe ori fatală. Administrarea prealabilă de heparină sau streptokinază previne urmările letale ale celei de a doua injecții (16, 21, 22, 43).

În clinică, echivalențe ale acestui fenomen biologic pot fi socotite următoarele stări :

— *septicemia cu colibacil după avort criminal*, ca și septicemia cu meningococ și în general cu germeni Gram-negativ ; eliberarea de endotoxină ar fi la originea unei CIVD cu obstruarea microcirculației urmată de necroze cutanate și stare de șoc, de obicei ireversibil. Tratamentul cu agenți trombolitici influențează șocul prin îndepărtarea ocluziilor vasculare ;

— *sindromul Waterhouse-Friederichsen* este un sindrom de CIVD apărut brutal la bolnavi cu septicemie cu germeni Gram-negativ, între care meningococul, dar și Gram-pozitiv (pneumococul) ; apare mai ales la copii și se manifestă prin colaps grav, sîngerări difuze, hemoliză și modificări biologice specifice coagulopatiei de consum ; alături de antibiotice, corticoizi, afecțiunea trebuie tratată și cu heparină ;

— *purpura fulminans* a fost primul sindrom de CIVD tratat cu heparină, de către Little în 1959 ; apare brusc, la copii, în convales-

Scanned with OKEN Scanner

cența unei infecții bacteriene sau virale și se caracterizează prin hemoragii cutanate, plăci de necroză pe membre, la care se pot adăuga atingeri renale, pulmonare și intestinale ; alături de saturarea SRH ar participa aici, la procesul de CIVD și leziunile endoteliale și activarea factorului XII ;

— *purpura trombohemolitică trombocitopenică sau sindromul Moschowitz* a fost asimilată unui sindrom Schwartzmann-Sanarelli cu CIVD consecutivă, datorită analogiei leziunilor : obstrucție a microcirculației, mai ales periarteriolară ; unii autori cred că o reacție antigen-anticorp determină coagulopatia de consum din sindromul Moschowitz ;

— *sindromul Gasser* sau *sindromul hemolitic uremic* este clasificat de asemenea de către unii autori la acest mecanism ; este vorba de o infecție virotică ducînd la modificări clinice, biologice și morfologice de CIVD, cu anemie hemolitică, plachetopenie și insuficiență renală ; este de notat că sindromul Moschowitz are în plus simptome neurologice.

În numeroase statistici (1, 9, 10) procentul etiologic cel mai ridicat de CIVD revine infecțiilor, în primul rînd cu Gram-negativi, dar și cu virusuri, fungi, b. Koch, rickettsii (48). Sînt cele mai grave și deseori rezistente la heparină (11).

În infecții, endotoxinele bacteriene, virusurile și complexele antigen-anticorp ar acționa nu numai prin intermediul blocării SRH, ci și prin activarea coagulării prin intermediul hematiilor, trombocitelor și endoteliului vascular care, sub acțiunea celor trei factori amintiți, eliberează substanțe procoagulante sau activează enzime ale coagulării ducînd la CIVD. De asemenea, endotoxinele potențează activitatea procoagulantă a leucocitelor, mai ales a monocitelor (35) și a granulocitelor (14), care exprimental sînt acumulate, sechestrate și dezintegrate în plămîni (17, 29, 30). Experimental s-a mai observat că endotoxina, lezînd celulele endoteliale, determină tulburări vasoactive cu stază marcată (9). Un alt efect al endotoxinei este stimularea axei pituitaro-suprarenaliene cu creșterea importantă în circulație a adrenalinei, noradrenalinei și corticosteroizilor, cu vasoconstricție consecutivă, mai ales renală (9).

Recent s-a demonstrat că endotoxemia poate activa nu numai indirect factorul Hagemann (prin leziunile endoteliale produse mai ales în stările de șoc) ci și direct, prin regiunea lipidică A a lipopolizaharidelor bacteriene (28). Kalicreina eliberată sub influența factorului Hagemann activat, stimulează sistemul extrinsec al coagulării prin intermediul factorului VII (23, 24).

Complexele antigen-anticorp din diverse stări imunologice ar declanșa procese de coagulare intravasculară diseminată, cu depuneri de fibrină și tromboze capilare consecutive, prin intermediul unei reacții Schwartzmann-Sanarelli generalizată. Se adaugă inducerea, de către

Scanned with OKEN Scanner

aceleași complexe, de agregări plachetare și potențarea coagulabilității sîngelui prin factorii plachetari eliberați în acest fel. Așa s-ar explica sindroamele hemoragice din reacțiile posttransfuzionale prin incompatibilitate de grup, din reacțiile alergice, din glomerulonefrita acută și cronică, din nefrita lupică, din colagenoze și purpura vasculară Schönlein-Henoch.

În fenomenul de respingere a grefonului din transplantul de organe este vorba de asemenea de un proces imunologic care face să intervină un complex antigen-anticorp tradus printr-o CIVD, echivalent al fenomenului Schwartzmann-Sanarelli.

3. *Microcirculație încetinită într-un pat vascular dilatat și alterat.* Acest mecanism intervine cu preponderență în următoarele afecțiuni:

— *angiomatoza gigantă Kassabach-Meritt*: se întîlnește la copii care se nasc cu un angiom difuz și un sindrom hemoragic generalizat, consecutiv plachetopeniei și scăderii proaccelerinei și fibrinogenului; coagularea intravasculară se produce prin stagnarea sîngelui la nivelul sacilor vasculari anormali; plachetele sînt sechestrate și consumate la nivelul tumorii, iar factorii plasmatici ai coagulării sînt puternic diminuați în cursul constituirii CIVD;

— un tablou biologic similar se întîlnește în *sindromul Klippel-Trenauney* (hiperplazia vasculară congenitală izolată) și în *sindromul Parkes-Weber*; în aceste sindroame este vorba de o hipertrofie osoasă și a părților moi, limitată la un membru (gigantism asimetric) și asociată cu angioame cutanate plane; afecțiunile sînt congenitale. Se asociază o agenezie a venelor profunde însoțită de venectazii importante la membrul respectiv în primul sindrom și cu anastomoze arteriovenoase în cel de-al doilea.

Cirozele se pot complica și ele cu un sindrom de CIVD, cauzele fiind complexe: circulație încetinită în patul vascular întins al circulației colaterale și în splina congestivă, alterarea funcției hepatocitului și perturbarea hemodinamică a circulației portale, care duc la o diminuare a neutralizării factorilor de coagulare activați și a materialului tromboplastinic liber în SRH hepatic; necroza și insuficiența hepatică acută severă determină de asemenea CIV, dar de multe ori ea este localizată la organ; utilizarea heparinei în CIV de origine hepatică este foarte controversată și în orice caz trebuie să fie extrem de prudentă (9, 44).

În decompensările acute din cursul insuficiențelor respiratorii cronice poate interveni un sindrom hemoragic, adesea fatal, datorită unui sindrom de CIVD; hipercoagulabilitatea din aceste stări se dezvoltă pe fondul hipoxemiei și acidozei cronice, la care se adaugă poliglobulia compensatoare cu creșterea hematocritului și hiperplachetoză; în perioadele de decompensare acută, agravarea bruscă a acidozei și hipoxemiei (sub 60%) fac ca, așa cum a arătat Raby, hipercoagulabilitatea

Scanned with OKEN Scanner

cronică să fie basculată către coagulopatie de consum cu sîngerări consecutive ; din acest motiv, în astfel de stări, pentru a preveni complicațiile hemoragice, este necesar ca, alături de tratamentul hipoxemiei și acidozei, să se asocieze heparinoterapie prelungită care să preîntîmpine decompensarea brutală sau progresivă a funcției hemostatice (33).

În bronhopneumopatiile obstructive cronice, chiar și fără manifestări hemoragice, există o coagulopatie de consum (31, 47). Bignon și col. au găsit în 86,5% din cazuri, post-mortem, tromboembolii pulmonare (citat de 47). Pe de altă parte, investigarea hemostazei găsește în insuficiența respiratorie fie o hipercoagulabilitate, fie o hipocoagulabilitate, în funcție de momentul biopatologic în care este surprinsă CIVD localizată pulmonar.

Diverși autori subliniază că rareori se găsesc reunite toate probele biologice ale CIVD (plachetopenie, scăderea timpului de protrombină, scăderea fibrinogenului, prezența PDF). Cu toate acestea, actualmente, dată fiind cvasiconstanța CIVD în BPOC, administrarea heparinei este o indicație curentă, pe baza următoarelor criterii (31, 47) : scăderea PaO_2 cu creșterea $PaCO_2$; apariția sau accentuarea semnelor ECG de supraîncărcare ventriculară dreaptă ; creșterea hematocritului peste 50% ; prezența unei hipocoagulabilități (scăderea plachetelor și/sau a fibrinogenului și/sau a protrombinei) ; creșterea sistemului fibrinolitic (creșterea PDF și/sau diminuarea plasminogenului) ; lipsa de explicație a agravării clinice în afară de o CIVD.

Poliglobulia secundară hipoxemiei pare factorul patogenic principal în eliberarea din hematii, prin fragilizare, a unui factor „thromboplastin-like" și de acid adenozindifosforic care favorizează agregarea plachetară și declanșează mecanismul extrinsec al coagulării. Pe de altă parte, agregatele eritrocitare determină o hiperviscozitate și o stază care agravează hipoxia tisulară cu leziuni endoteliale consecutive ; acestea inițiază adezivitatea plachetară și activează factorul Hagemann. De notat însă că poliglobulia poate fi „mascată" din cauza destructibilității accentuate a hematiilor ; în realitate, producția este crescută, fapt dovedit de nivelul ridicat al eritropoietinei în serul acestor bolnavi (2, 3, 6, 47).

Wipf și Stinghe au utilizat doze moderate de heparină (care nu necesită examene biologice de control, nefiind pericol de hemoragii) timp de 1—7 luni de zile, pînă cînd semnele clinice, biologice și gazometrice de coagulare intravasculară au rămas absente pe o perioadă de 4 săptămîni. Ei au administrat calciparină în 2 injecții s.c. la 12 ore și anume 0,4—0,6 ml (10.000—15.000 U), adică 0,1 ml/10 kg-corp de fiecare injecție. Wipf și Stinghe subliniază că tratamentul heparinic este perfect eficient administrat singur, neasociat cu corticoizi, bronhodilatatoare sau antibiotice (47).

Există și alte circumstanțe patologice în care coagularea intravasculară diseminată poate interveni : diverse intoxicații exogene acute cu caustice puternice, *Amanita phalloides*, acid acetic, arsenic,

Scanned with OKEN Scanner

tetraclorură de carbon, antimoniu, clorat de potasiu, bicromat de sodiu, dicloretan, colchicină ; arsuri grave sau întinse, sindromul Lyell, insolaţie (hipertermie), hipotermie, insuficienţă renală acută, pielonefrită, coma hipoglicemică, hipertensiunea arterială malignă, malarie *(Plasmodium falciparum)* ; coagulopatie de consum s-a înregistrat după administrarea în cantităţi mari de substanţe ca : amfetamine, pirazolon, paracetamol, dextran, antitiroidiene (metil-tiouracil), acid epsilon-amino-caproic, fibrinogen, antienzimele fibrinolizei, antivitamine K, asparaginază, evipan, HIN, rifampicină.

Tablou clinic (9, 10, 16, 24, 26, 33, 38, 39, 43).

Dacă cea mai mare parte a cazurilor de CIVD sînt oculte, fiind minore şi tranzitorii, în schimb tabloul clinic al formelor acute este foarte grav şi polimorf, datorită registrului larg de condiţii patologice în care se produce, iar pe de altă parte, datorită variatelor organe şi ţesuturi care pot suferi de pe urma blocării trombotice a microcirculaţiei, suferinţă care poate merge, în caz de obstrucţii brutale şi foarte întinse, pînă la stare de şoc.

Personalitatea clinică a CIVD acute o constituie o combinare aparent paradoxală a unor procese concomitente *trombotice* şi *hemoragice*, procese apărute în cadrul unui context etiologic evocator pentru o CIVD. Odată declanşată, afecţiunea se recunoaşte la început după *trombozele din microcirculaţie* trădate prin : cianoză intensă a extremităţilor („nas negru"), zone cutanate bine delimitate, de ischemie palidă, de necroză violetă (purpură necrotică) sau de gangrenă ; dureri musculare sau lombare prin modificări ischemice la nivelul muşchilor şi rinichilor ; insuficienţă respiratorie gravă prin infarctizări pulmonare multiple ; fenomene neurologice prin infarcte multiple ale SNC ; insuficienţă renală cu oligoanurie gravă, prin formarea de trombi în arteriolele glomerulare aferente sau chiar în glomeruli, cu necroză secundară ; ulceraţii acute ale stomacului şi intestinului prin infarctizări ale submucoasei ; foarte rar se pot produce chiar tromboze ale venelor sau arterelor mari periferice în CIVD netratată, dar prezenţa unei tromboflebite sau gangrene poate exprima existenţa unui alt proces de bază sau poate fi indiciul unei terapii inadecvate.

Mult mai semnificative sînt manifestările *hemoragice* care urmează imediat sau sînt intricate cu trombozele şi care pot merge pînă la aspecte cataclismice : sîngerări spontane în piele şi ţesutul subcutanat (hematoame mari care se extind în suprafaţă, sîngerări peteşiale tipice pentru plachetopenie) ; epistaxisuri şi gingivoragii, care constituie semne suficiente ale gravităţii CIVD şi eficacităţii tratamentului ; hemoragii viscerale, mai ales digestive, care pot fi masive, cu hipotensiune marcată, precum şi respiratorii (în orice hemoptizie apărută brusc trebuie suspectată o CIVD) ; hematurie, rareori importantă, prin atingere

Scanned with OKEN Scanner

glomerulară ; hemoragii cerebrale, cauză frecventă de exitus ; peteșii la nivelul garourilor și sîngerări prelungite la locurile de puncție.

Moartea poate surveni prin : directa acțiune a trombozelor sau hemoragiilor asupra unui organ vital (creier, rinichi) ; șoc hemoragic ireversibil ; combinarea CIVD cu boala de bază.

Examenul histopatologic. Macroscopic, se pot observa hemoragii mucoase, seroase, sau viscerale multiple, mai ales la nivelul plămînilor, suprarenalelor, pancreasului, ficatului, rinichiului, tubului digestiv.

Microscopic : trombi hialini, agregate de elemente figurate (globulare, fibrinocruorice, fibrinoase). Trombozele nu sînt găsite constant. Pot fi arteriolare, capilare sau venoase. Ating mai ales plămînii, rinichii, splina.

Trebuie de scos în evidență faptul că deseori nu există concordanță între datele histologice și cele biologice, datorită trombolizei asociate, CIVD fiind un proces în mișcare continuă. Surprins în momentul fibrinolizei secundare, necroptic trombozele pot să lipsească. De asemenea, depozitele de fibrină pot fi lizate printr-o violentă fibrinoliză post-mortem (41).

Diagnosticul pozitiv al CIVD se bazează pe (10, 16, 32, 33, 41, 42) :

a) prezența unui context etiologic semnificativ, capabil să ducă la CIVD ;

b) prezența unei diateze trombotice și hemoragice ;

c) pozitivitatea următoarelor trei teste biologice, care exprimă procesul de „consum" :

— *scăderea trombocitelor sub 100 000/mm*^{3} (semnul cel mai util) ;

— *scăderea timpului de protrombină sub 50%* ;

— *scăderea fibrinogenului* sub 2 g‰ (semnificativ, sub 1,60 g‰).

La aceste trei teste se adaugă decelarea monomerilor de fibrină prin testele de paracoagulare : *testul de gelificare cu etanol și testul de precipitare cu protamină* (15, 18, 37, 40). Ele sînt pozitive în primele 24 de ore, dar dacă procesul nu a fost stăpînit, rămîn pozitive atît timp cît factorul cauzal persistă, fiind astfel un bun indicator al eficienței terapiei de bază.

Testele biologice menționate au dublul avantaj de a da pozitivități semnificative mai ales în cazurile grave de CIVD, deci cînd precizarea diagnosticului este capitală pentru tratament și de a putea furniza rezultatul foarte rapid, într-o oră, fapt care poate fi vital pentru bolnav. Testele care dau rezultate după 12—24 de ore au numai rol de confirmare sau rol pur doctrinar (41). De asemenea, marele avantaj al testelor de mai sus este de a putea fi ușor repetate de mai multe ori în 24 de ore.

Unele observații trebuie făcute privind aceste teste:

1. Deoarece aceiași factori (I, V, VIII) sînt sensibili și la procesul de consum și la cel de liză, cînd nu are altă cauză (de ex. transfuzii

Scanned with OKEN Scanner

multiple), *trombocitopenia* constituie semnul care poate fi considerat specific pentru CIVD. De asemenea, cînd intervine fibrinoliza secundară, testul von Kaulla este pozitiv, plasminogenul coborît, PDF prezenți; în acest moment, numai trombocitopenia este martorul CIVD. De știut însă că heparina poate determina o plachetopenie acută, reversibilă.

2. În ceea ce privește factorii complexului protrombinic, cel mai frecvent diminuată este *proaccelerina*, încît, atunci cînd este posibil, este de preferat să se dozeze acest factor. Astfel, *plachetopenia și scăderea factorului V ar constitui elementele cele mai constante și deci cele mai utile în diagnosticul biologic al CIVD.*

3. Scăderea fibrinogenului (care poate ajunge uneori pînă la zero) nu mai pare actualmente un semn obligatoriu, mai ales în obstetrică. O cifră normală sau chiar crescută nu exclude diagnosticul, mai ales cînd nu se cunosc valorile inițiale. De remarcat că fibrinogenul se refface foarte repede, chiar fără tratament, datorită unei biosinteze foarte rapide, mai ales dacă există concomitent procese inflamatorii. Cu toate acestea, pentru Cash, plachetopenia asociată cu scăderea fibrinogenului constituie semnele cele mai constante pentru diagnostic (9).

4. În privința testelor de paracoagulare, sînt de precizat următoarele: un element esențial de diferențiere între CIVD și fibrinoliza primară este prezența în plasmă de „complexe solubile", adică de derivați de fibrinogen cu greutate moleculară ridicată. Acești derivați rezultă din interacțiunea dintre un monomer de fibrină și fibrinogenul normal sau PDF. Testul cu etanol și cel cu sulfat de protamină pun în evidență aceste complexe solubile, deci indică prezența monomerilor de fibrină care polimerizează sub acțiunea celor două substanțe și se gelifică. Testele trebuie efectuate în prima oră de la recoltare, gelificarea citindu-se cel mai bine în acest interval. Deși cu unele limite, aceste teste simple rămîn foarte prețioase în practică.

PDF se pot titra, tehnica cea mai simplă fiind Fi-testul; normal este sub 1 : 8; în CIVD, peste 1 : 16. Metoda imunologică de inhibare a hemaglutinării eritrocitelor (Merskey), dificilă, dar excelentă, dă valori foarte ridicate în CIVD (normal 10 micrograme/ml). S-a sugerat că acest test ar putea fi înlocuit cu testul latex.

Recent s-a observat că la un mic grup de bolnavi răspunsul fibrinolitic este inadecvat, fie din motive genetice (9), fie că factorul declanșator al CIVD, de pildă endotoxina, inhibă mecanismul fibrinolitic (4). În general este vorba de cazuri cu prognostic sever.

Diagnosticul diferențial al CIVD trebuie făcut cu fibrinoliza primară (FP), dat fiind că în CIVD intervine o fibrinoliză secundară, reacțională. Unele semne sînt comune, iar pe de altă parte în CIVD este vorba de fenomene în continuă desfășurare, ele modificîndu-se

Scanned with OKEN Scanner

permanent, uneori foarte rapid, datorită faptului că organismul utilizează sistemul fibrinolitic ca mijloc de apărare. Or, diferențierea diagnostică între cele două sindroame este capitală, tratamentul fiind diametral opus : împiedicarea CIVD prin heparină în fibrinoliza secundară, inhibarea fibrinolizei prin antifibrinolitice în FP. Aceste rezerve fiind făcute, trebuie de spus că în majoritatea cazurilor diagnosticul de CIVD este relativ simplu și se bazează pe următorii parametri :

— FP este foarte rară (unii autori merg actualmente pînă la a contesta existența ei, considerînd toate fibrinolizele ca fiind secundare), iar în cazul cînd se produce, ea reprezintă un cataclism dramatic care se instalează cu mare brutalitate și comportă sîngerări foarte severe ;

— apariția sindromului hemoragic în cadrul unui context etiologic evocator pentru o coagulopatie de consum ;

— în caz de CIVD, pentru diagnosticul biologic se va folosi triada testelor amintite, la care se vor adăuga probele de paracoagulare ; în cazul cînd tabloul clinic sugerează o FP, identificarea fibrinolizei se va face prin timpul de liză a euglobulinelor (testul von Kaulla), a cărui valoare normală este 120 minute și timpul de liză a sîngelui total ; intensitatea acestor probe și lipsa plachetopeniei indică o FP ;

— testul cel mai simplu de diferențiere este observarea atentă a cheagului : în CIVD retracția cheagului este lentă (din cauza plachetopeniei), iar după incubare mai lungă rămîne un cheag mic (fibrinogen scăzut) ; în FP se produce un cheag voluminos care se dizolvă singur (printr-o mare activitate fibrinolitică), sau nu se produce nici o coagulare, prin liza imediată a oricărui cheag ; este deci important să se identifice mici cheaguri stabile, cel mai simplu prin filtrarea sîngelui prin tifon, în modul acesta excluzîndu-se o FP (42).

Trebuie de spus că marile speranțe care s-au pus în metodele foarte fine imunologice și de hemaglutinare pentru a face distincție între PDF ai CIVD și cei ai FP nu s-au confirmat în practică (39). Faptul acesta a făcut pe Streif și col. să afirme că în rezolvarea diagnosticului de urgență dintre CIVD și FP, tehnicile biologice cele mai fine și mai sofisticate par de cel mai mic ajutor în practică, în timp ce tehnicile mai grosolane au valoare superioară (42).

Același lucru se poate spune și despre numeroasele tehnici biologice recente, care încearcă aflarea unor metode de diagnostic de o cît mai mare certitudine în CIVD : cercetarea aspectului plachetelor (plachete serice, plachetele activate ale lui Sokal, plachete hiperactive) ; creșterea factorului IV plachetar (5) ; dispariția fibrinogenului marcat ; identificarea precisă a produșilor de transformare a fibrinogenului în fibrină, mai ales produșii de paracoagulare : fibrinogen B, criofibrinogen, fibrinogen heparinoprecipitabil la rece ; cantificarea complexelor de factori coagulanți activați de antitrombina III (37) ; detectarea unui nou factor specific eliberat de plachete (beta-tromboglobulina) (20).

Scanned with OKEN Scanner

Tratament

Tratamentul CIVD acute vizează trei obiective principale :

— terapia afecțiunii de bază, a cărei neglijare compromite întregul tratament ;

— inhibarea efectelor trombinei prin heparină, care este medicația antitrombinică majoră ;

— înlocuirea factorilor hemostazei, consumați sau pierduți.

La aceste trei măsuri se poate asocia, în unele cazuri, inhibarea unei fibrinolize prea intense prin acid epsilon-amino-caproic (EACA).

a) *Tratamentul afecțiunii de bază* este esențial. El trebuie efectuat din primul moment cu toată energia și timp suficient, adaptat cauzei respective. De pildă, în avortul septic, tratamentul va fi de durată lungă, deoarece chiuretajul uterului și uneori chiar extirparea lui, nu pot opri procesele patologice complexe. De lungă durată este și tratamentul unor infecții grave, tenace, sau a unor embolii pulmonare multiple. De asemenea, se vor corecta din primul moment diversele condiții care întrețin sau favorizează CIVD : starea de șoc, hipoxia, acidoza, diselectrolitemia, hipovolemia etc. În tratamentul eventualei stări de șoc asociată se vor evita dextranii, care pot exacerba sîngerările (27) și de asemenea soluțiile ca Ringer-lactat, care ar determina hipoxemie prin „sindromul de plămîn umed" (9, 27).

b) *Administrarea heparinei.* Heparina împiedică trombina să acționeze și astfel oprește depunerile de fibrină în microcirculația organelor, protejîndu-le de consecințele funcționale și lezionale ale blocajului trombotic.

În primul moment se injectează 25—30 mg i.v. ; imediat, în continuare, se instituie perfuzie continuă în doze de 2—3 mg/kg-corp în 24 de ore (125 mg heparină în 500 ml sol. glucozată 5%) ; după 24 de ore se poate administra heparina și spațiat, la intervale de 4—6 ore. Recent, unii autori recomandă doze de 1—1,5 mg/kg-corp în 24 ore ; astfel de doze riscă însă să fie ineficiente ; noi am utilizat în primele zile chiar doze de 5 mg/kg-corp în 24 ore, în cazuri cu hemoragii multiple și foarte grave, cu rezultate excelente (32). În forme gravissime, de ex. în embolia lichidului amniotic, Sharp indică în primul moment 100 mg heparină. Sharp atrage de asemenea atenția că sînt circumstanțe, ca embolia lichidului amniotic sau reacția post-transfuzională incompatibilă, în care nu mai avem timp să așteptăm rezultatele de laborator, heparina trebuind administrată cu maximum de urgență, înainte deci de a avea confirmarea testelor biologice (26, 41).

Heparina se va administra un timp suficient de îndelungat pentru a oferi o șansă reală de răspuns din partea bolnavului. De obicei, acest răspuns este excelent în primele 4—5 zile, chiar dacă afecțiunea de bază continuă să evolueze (16, 26, 33, 43).

Scanned with OKEN Scanner

Administrarea s.c. a heparinei (50 mg la 8—12 ore) pare a fi indicată cu rol profilactic în septicemii.

Urmărirea tratamentului trebuie făcută prin repetarea testelor menționate de 2—3 ori în 24 ore în primele 2—3 zile, apoi zilnic pînă la neta ameliorare clinică. Dar *riscurile sîngerărilor prin heparină la bolnavii cu CIVD sînt minime*, aceștia fiind adesea rezistenți la heparină. Trebuie însă de știut că, în ultimă instanță, starea clinică este cea care decide necesitățile terapeutice.

Intervalul în care testele biologice revin la normal sînt următoarele (10, 26, 33) : PDF dispar aproximativ în 9—10 ore, dar cînd sînt în cantitate mare pot persista și o săptămînă ; timpul de protrombină se normalizează în 24 de ore ; fibrinogenul crește semnificativ în 1—3 zile. Plachetele răspund în general mai lent, de la cîteva zile la cîteva săptămîni. Faptul se poate datora deprimării măduvei osoase prin medicații, infecții, tumori. Dar, precum am amintit, însăși heparina poate produce o plachetopenie acută reversibilă. Astfel, numărul plachetelor poate apare (moderat) scăzut, deși răspunsul clinic la heparină este foarte bun. Clinica rămîne în acest caz criteriul de conducere al tratamentului în continuare. Transfuziile multiple pot provoca și ele plachetopenie (sub 50 000/mmc după 15 flacoane de sînge conservat).

Trebuie de spus că, dacă cea mai mare parte a autorilor afirmă eficacitatea indubitabilă a heparinei în CIVD (8, 10, 12, 16, 26, 27, 33, 43, 45), alți autori nu relatează rezultate convingătoare (11, 34, 46), iar alții vorbesc chiar despre o agravare a hemoragiilor (19). Cash constată însă că majoritatea cazurilor de eșec al heparinei reprezintă septicemii și endotoxemii. Pentru astfel de cazuri vor trebui căutate noi arme terapeutice : antitoxine specifice (7), perfuzii de antitrombină III (13, 36).

c) *Substituirea factorilor coagulării consumați* se face cu plasmă proaspătă (600 ml în 24 de ore, la o persoană de 60 kg, doză suficientă pentru a înlocui fibrinogenul pierdut) și numai în caz de sîngerări grave (gastrointestinale, renale, gingivale). Cînd pierderile de sînge și hemoliza sînt importante, se va administra masă eritrocitară ; dacă plachetopenia este importantă, sînt necesare concentrate plachetare. Ultimele pot fi însă nocive, pentru că pot conține trombocite distruse, capabile să întrețină CIVD. O singură excepție : CIVD din leucemia acută promielocitară.

Dar orice transfuzie substituțională se va face exclusiv sub heparină. Altfel, transfuziile agravează sîngerările, favorizînd, prin aportul de factori ai coagulării, formarea de noi trombi capilari în faza de hipercoagulabilitate, iar în faza de fibrinoliză secundară, accentuarea procesului fibrinolitic prin aportul de fibrinogen.

Scanned with OKEN Scanner

d) *Tratamentul fibrinolizei secundare* este controversat. Se va face numai excepțional, în caz de persistență a unor hemoragii grave, și pe cît posibil sub controlul zilnic al titrului PDF. Se vor administra inițial 5 g (20 ml i.v.) EACA, apoi 1 g/oră pînă la doza totală de 12 g. După caz, se va repeta doza la 12 sau 24 ore pînă cînd hemoragiile se opresc. *Dar este de la sine înțeles că administrarea heparinei rămîne terapia de fond în continuare.*

Cîteva precizări în legătură cu tratamentul fibrinolizei secundare din cursul CIVD trebuie făcute. Teoretic, dacă primul obiectiv al tratamentului CIVD este combaterea excesului de trombină circulantă prin heparină, cel de-al doilea obiectiv ar trebui să fie combaterea fibrinolizei secundare, adică combaterea formării de PDF, care acționează ca anticoagulanți. Dar, deoarece procesul prin care se formează PDF constituie o reacție fiziologică pentru a reface permeabilitatea vasculară în organe, rezultă că orice mijloc care se opune sîngerării produse prin acest mecanism împiedică procesul reparator din microcirculație. Aceasta este rațiunea pentru care terapia cu EACA trebuie rezervată, așa cum am menționat, numai cazurilor cu hemoragii foarte grave, demonstrate biologic a fi suplimentate prin fibrinoliza secundară.

Dar, chiar și în cazurile de CIVD cu hemoragii persistente, tratamentul antifibrinolitic este pus sub semnul întrebării. Au fost publicate cazuri agravate sau chiar letale după acest tratament. Invers, au fost comunicate observații de fibrinoliză severă remise exc usiv sub heparină (10). S-a afirmat că administrarea de EACA asociat heparinei nu a dat rezultate mai bune în CIVD decît heparina singură, ci dimpotrivă, mai rele. Se pare că singura indicație a EACA ar fi sîngerarea locală în tractul urinar după administrarea de urokinază (10). Din aceste motive, administrarea inhibitorilor fibrinolizei este socotită de școala franceză, nu numai inutilă dar chiar periculoasă, în sensul că, precum am menționat, liza secundară coagulării este un mijloc de apărare a organismului împotriva depozitelor excesive de fibrină (26, 33).

În legătură cu aceasta, Colman și col. formulează ipoteza că nu există fibrinoliză primară ci numai fibrinolize secundare luate în mod eronat drept primitive. Din acest motiv ei preconizează la toți bolnavii cu fibrinoliză severă un tratament inițial de probă cu heparină, care poate constitui în cazuri incerte un test terapeutic. Altfel, EACA administrat singur agravează CIVD, care se află aproape întotdeauna la originea unei fibrinolize și ar duce astfel la tromboze. În caz de fibrinoliză primară, heparina modifică puțin tabloul clinic și tratamentul fibrinolitic nu va fi mai puțin eficace (10).

Scanned with OKEN Scanner

e) *Tratamentul cu antitrombină III.* Recent, s-a încercat în CIVD utilizarea concentratului de antitrombină III (AT—III), antifactor natural cu puternică acțiune inhibitorie asupra factorilor activați, — și a cărui valoare plasmatică normală este 80—140 U %. Aplicarea sa în CIVD se bazează pe următoarele argumente :

— AT—III poate fi deficitară în CIVD (de asemenea, în ciroza hepatică și sindromul nefrotic, iar rareori și congenital) ; or, AT—III este un cofactor heparinic ; prin urmare, pentru ca heparina să poată acționa este nevoie să se ridice în prealabil la normal pragul de AT—III plasmatică ; de altfel, AT—III este scăzută în general în cazuri de tromboză, astfel că în orice tratament heparinic ar fi necesară restabilirea valorii fiziologice a AT—III ;

— heparina diminuă pragul de AT — III, fapt care poate duce la CIVD : acesta este al doilea argument pentru necesitatea normalizării prealabile a AT—III în plasmă.

Schipper și col. utilizează cu bune rezultate clinice și biologice în CIVD concentrat de AT—III, singur sau asociat cu heparină. Uneori ei activează în prealabil AT—III cu heparină in vitro. Dozele folosite au variat între 1 750 și 3 300 U AT—III concentrat (38).

Tratamente adjuvante. Repermeabilizarea capilară poate fi ajutată cu papaverină și acid nicotinic. Condițiile care pot influența negativ mecanismul coagulării trebuie corectate. De pildă, deficitul de acid folic poate cauza plachetopenie, iar deficiența de vit. K împiedică formarea complexului protrombinic (10).

Corticoizii vor fi în general evitați pentru că blochează SRH.

În caz de hipotensiune marcată sau stare de șoc, Verstraete evită analepticele care dau vasoconstricție periferică și preferă simpaticomimeticele ca regitina și dibenzamina. Este necesar să se ridice de urgență blocajul din microcirculație, mărind volumul sanghin prin vasodilatarea patului capilar. În felul acesta are loc scăderea rapidă a pragului inițial crescut al catecolaminelor. De asemenea, se va trata energic acidoza, deoarece aceasta favorizează hipercoagulabilitatea și diminuă efectul anticoagulant al heparinei. Trebuie de știut că în general, tratamentul CIVD din cursul șocului necesită mare prudență, sub controlul repetat al testelor de coagulare, dată fiind instabilitatea stării de coagulare de la acești bolnavi (44).

* * *

Actualmente, CIVD este considerată un „sindrom intermediar" (McKay) prezent într-un mare număr de afecțiuni, cu arie în continuă creștere. Dacă, precum am mai menționat, în formele subacute și cronice CIVD poate să nu aibă expresie clinică și simpla corectare a bolii de bază este suficientă, în formele acute procesele trombotice și he-

Scanned with OKEN Scanner

moragiile multiple angajează cu cea mai mare gravitate prognosticul vital.

Este de remarcat că diagnosticarea CIVD este simplă în cazurile obstetricale și chirurgicale, dar este mult mai dificilă în afecțiunile medicale, aici apărînd în cadrul unor manifestări patologice adesea deosebit de complexe. Dar elementele diagnosticului biologic sînt de cele mai multe ori foarte concludente în formele acute.

Măsurile terapeutice trebuie instituite în primă urgență: tratamentul etiologic, asociat heparinei. Chiar dacă heparina nu constituie tratamentul ideal și ea va putea fi înlocuită mai curînd sau mai tîrziu de o terapie mai fiziologică, precum AT—III, și chiar dacă autori izolați, pe cazuri izolate, se plîng de eșecuri sau agravări sub heparină, experiența favorabilă a majorității autorilor pe mari statistici impun această medicație ca unica măsură salvatoare în CIVD, cel puțin în momentul de față.

Totul depinde de discernămîntul medicului de a diagnostica CIVD și de curajul său de a administra heparina, trecînd peste automatismul unei reticențe foarte înrădăcinate de a opune această medicație în hemoragii. Prudența în administrarea heparinei, după expresia lui Bourde (citat de 33), nu este aici mama înțelepciunii, ci fiica fricii, care poate fi fatală pentru bolnav.

BIBLIOGRAFIE

1. *Al. Mondhiry, H.* Thrombosis et Diathesis Haemorrhagica, 1975, *34*, 181.
2. *Bachman F.* Médecine et Hygiène, 1977, *35*, 912.
3. *Berthoud S., C. A. Bouvier.* Médecine et Hygiène, 1977, *35*, 921.
4. *Bergstein J. M., A. F. Michael.* Amer. J. Pathol., 1974, *74*, 19.
5. *Bolton A. E. et al.* Thrombosis Research. 1976, 7.
6. *Bouvier C. A., J. Borzykowski*: Médecine et Hygiène, 1977, *35*, 936.
7. *Braude A. I., Douglas H., Davis C. E.* J. Infect. Dis., 1973, *128*, 157.
8. *Brodsky I., Siegel N. H.* Medical Clinics of North Amer., 1970, *54*, 555.
9. *Cash J. D.* Disseminated Intravascular Coagulation în *Recent Advances in Blood Coagulation*, ed. by L. Poller, vol. II, Churchill Livingstone, New-York, 1977.
10. *Colman R. W., Robboy S. J., Minna J. D.* Am. J. Med., 1972, *52*, 679.
11. *Corrigan J. J., Jordan J. M.* New Engl. J. Med., 1970, *283*, 778.
12. *Deykin D.* New. Engl. J. Med., 1970, *283*, 636.
13. *Eurenius K., Braunstein K., Rossi T. D.*, New Engl. J. Med., 1975, *292*, *810*.
14. *Gaynor E.* Blood, 1973, *41*, 797.
15. *Gurewich W., Hutchinson E.* Ann. Int. Med., 1971, *75*, 895.
16. *Hardaway R. M. Sindromes of Disseminated Intravascular Coagulation* Thomas. Illinois, 1966.
17. *Horn R. G., Collins R. D.* Laboratory Investigation, 1968, *19*, 451.
18. *Jacobsen C. D., Southers N. J.* Thromb. et Diath. Haemor., 1973, *29*, 27.
19. *Klein H. G., Bell W. R.* Ann. Int. Med., 1974, *80*, 477.
20. *Ludlam et al.* Thrombosis Research, 1975, *6*, 543.

Scanned with OKEN Scanner

IMPLICAȚII HEMATOLOGICE ALE MEDICAMENTELOR

de G. Popa și Cristina Burcoveanu

Numărul în continuă creștere al medicamentelor moderne, puternica lor acțiune, consumul exagerat și deseori irațional, la care se adaugă sensibilitatea individuală imprevizibilă, au creat, precum este bine știut, o patologie nouă, particulară, de proporții îngrijorătoare și uneori cu evoluție fatală.

Dintre toate țesuturile cel mai agresat este sîngele — atît elementele sale circulante cît și organele hematoformatoare.

Motivele acestei vulnerabilități ridicate constau, pe de o parte, în complexitatea și intensitatea activității metabolice și enzimatice a elementelor sanghine, ceea ce le face mai ușor atacabile la diverse nivele ale ciclurilor metabolice de către medicații, prin interferențe biochimice și, pe de altă parte, în faptul că celulele sîngelui sînt cele care prin circulație iau primele, nemijlocit și repetat, contact cu drogurile, fiind literalmente scăldate în substanța cu eventual potențial toxic.

Din numărul enorm de medicații cu toxicitate hematologică, nu vor putea fi amintite în continuare decît o parte și anume, acelea cu circulație curentă. În cele ce urmează vom distinge tulburări hematologice de origine centrală și tulburări hematologice de cauzalitate periferică.

A. Tulburări hematologice de origine centrală

1. Insuficiențe medulare globale

Insuficiențele medulare globale (denumite încă și aplazii medulare, anemii aregenerative, panmieloftizii, anemii aplastice, aleukii hemoragice, hipocitemii progresive etc.) de origine medicamentoasă nu depind în genere de dozele administrate și pot surveni la intervale variabile de timp după sistarea administrării drogului.

Tabloul clinic al formelor acute, de gravitate excepțională, a fost descris de Ehrlich în 1888, la tineri între 15—30 de ani: proces acut letal, care evoluează febril, cu sîngerări, leziuni ulcerative în faringe și aspect de hipocelularitate sanghină — leucopenie, trombocitopenie,

Scanned with OKEN Scanner

anemie marcată ; măduva osoasă prezintă o sărăcire a tuturor liniilor celulare (63).

Ulterior s-au descris și forme cu evoluție mai lentă, iar în măduva osoasă s-au descoperit și aspecte de normo-sau chiar hiperplazie,— ceea ce însă nu reflectă funcționalitatea medulară, totdeauna scăzută (63).

Wintrobe distinge două grupe de medicații producătoare de insuficiențe medulare globale :

a) droguri care generează de regulă pancitopenii cînd sînt administrate în doză terapeutică un timp suficient : agenții citostatici și antitiroidienele de sinteză ;

b) droguri care produc aplazie ocazională. Printre acestea se citează un mare număr de compuși, la care implicația hematologică a fost semnalată cu o frecvență foarte variabilă. Drogurile cu semnalări numeroase (8, 14, 19, 20, 24, 26, 27, 37, 38, 39, 63) sînt : *anticonvulsivante* : metil-etil-fenilhidantoina, trimetadiona ; *analgetice — antipiretice* : fenilbutazona, amidopirina ; *sărurile de aur*. Dintre drogurile cu accidente hematologice mai rare, citățm ca mai importante : *agenții antimicrobieni* : streptomicina, penicilina, amfotericina B, oxitetraciclina, clortetraciclina, meticilina, ampicilina, sulfametoxipiridazina ; *anticonvulsivante* : metil -fenil-hidantoina, difenil-hidantoina ; *antidiabetice* : tolbutamida, clorpropamida, carbutamida ; *antihistaminice* : tripelenamina ; *analgetice-antipiretice* : aspirina ; *sedative* : meprobamat, clordiazepoxid ; *fenotiazine* : prometazina, mepazina ; *alți compuși* ca : diamox, colchicina, mercur, bismut, argint coloidal, D-penicilamina.

În ciuda listei destul de bogate de agenți cauzali, numai un număr redus de medicamente determină aplazii grave. Principalele incriminate sînt cloramfenicolul și drogurile din grupa analgetice-antipiretice. Astfel, în Marea Britanie, piramidonul, a cărui prescriere a fost abandonată pentru acest considerent, ocupă primul loc în producerea aplaziilor medulare. În ordine, urmează fenilbutazona, oxifenilbutazona, cloramfenicolul, indometacinul, aurotiomalatul. (24) În Suedia, cauzele principale medicamentoase ale aplaziilor medulare relatate sînt : oxifenilbutazona, cloramfenicolul, fenilbutazona (Böttiger, cit. 24).

Este totuși greu de afirmat relația de la cauză la efect dintre o eventuală priză de drog și apariția insuficienței medulare (24, 26, 63). Se consideră în general că anomalia cauzatoare de bază stă în însăși structura medulară a subiectului, drogul administrat fiind circumstanța declanșatoare.

Medicamentul care, începînd din anii 1950 și culminînd cu anii 1964—1967, a suscitat cele mai multe discuții, considerat fiind cea mai frecventă cauză medicamentoasă de producere a aplaziilor medulare,

este cloramfenicolul. Statisticile au înregistrat situații alarmante, din care citățm doar cîteva. Din 700 de cazuri de aplazii medulare comunicate în registrul bolilor de sînge S.U.A., 45% consumaseră cloramfenicol (29). Într-o serie a lui Welch, din 607 cazuri cu anemii aplastice, 279 luaseră și cloramfenicol, iar 92 numai cloramfenicol (26). Între 1955—1962, din 1 195 cazuri de anemie aplastică relatate ca fiind produse de droguri, cele mai numeroase au fost atribuite cloramfenicolului (60). Într-o statistică citată de Wintrobe, din 408 cazuri de depresie medulară atribuită cloramfenicolului, 75% erau aplazii totale, iar 50% au fost fatale (63). Dintre 75 cazuri de panmielopatii urmărite în perioada 1965—1976 în spitalul Sf. George din Hamburg, 28 erau de origine medicamentoasă, dintre care 15 atribuite cloramfenicolului. Din acestea, 8 au decedat (26).

Complicațiile hematologice după cloramfenicol variază în medie după diferite statistici, între 1 : 14 000 — 1 : 40 000, cu limite între 1 : 11 500 și 1 : 185 000 (24, 26). După Bernard, mortalitatea prin cloramfenicol variază între 1/10 000 — 1/15 000 (6 b). În ultima vreme s-a înregistrat o scădere semnificativă a acestor complicații în țările Europei Vestice, ca urmare a restricției consumului, expresie a numeroaselor avertismente din literatură.

Reacția organismului la cloramfenicol pare a fi de două tipuri: reversibilă (*constantă* la administrarea drogului și dependentă de doză) și ireversibilă sau idiosincrazică (dependentă de terenul reactiv al subiectului), (7, 8, 14, 19, 24, 26, 36, 37, 38, 39, 47, 49, 61, 63).

1. *Reacția reversibilă*: 50% din pacienții tratați prezintă reticulocitopenie cu Fe seric normal sau crescut, hemoglobină scăzută, neutrocitopenie, trombocitopenie moderată (11, 35, 51, 63). În măduva osoasă a subiectului se constată prezența de vacuole în nucleul și citoplasma precursorilor seriei albe și roșii (mai ales în proeritroblaști). Efectul toxic proeritroblastic este prezent la toți bolnavii tratați cu cloramfenicol. El este însă ignorat datorită bolii de bază (infecția), care poate ea însăși să genereze modificări asemănătoare (vacuolizări în nucleul și citoplasma precursorilor) (47).

Mecanismul de producere pare a fi inhibarea sintezei proteice prin blocarea sintezei de ARNm și a stocajului acestuia (11, 59, 60, 61). Cercetîndu-se sinteza timidinei și a citozinei marcate din acidul orotic și încorporarea acestora în acizii nucleici din culturile de măduvă osoasă normală (59), s-a ajuns la concluzia că aceste procese sînt inhibate de cloramfenicol. Dar efectul se produce la concentrații de 250μg/ml în timp ce, după ingestia de 2 g cloramfenicol concentrația sanghină este de 20—40μg/ml, iar după 4 g de cloramfenicol concentrația sanghină este de 40—60μg/ml (59, 60, 61). S-a sugerat că măduva osoasă concentrează cloramfenicolul (Folette cit. 59). Pare importantă

in vivo și durata expunerii la cloramfenicol, în privința efectului toxic reversibil (11, 60, 63). O probă concludentă asupra efectului toxic direct al cloramfenicolului privitor la sinteza de acizi nucleici a fost adusă și de experiențele pe culturi de celule leucemice (50, 59). Doze de cloramfenicol fără efect asupra măduvei normale reduceau cu 50% sinteza de ADN marcat în măduvele cu proliferări rapide leucemice (50). De asemenea, s-a afirmat că drogul inhibă încorporarea fierului de către eritroblaști.

S-a constatat experimental că cloramfenicolul inhibă într-o manieră nesemnificativă, la concentrații mici (20μg/ml), care se obțin la doze mici de substanță, activitatea unor citocromi (Firkin, cit. de 50). La administrare continuă se produce o sistare bruscă a creșterii, datorită unei alterări, de astădată marcate, a activității respiratorii mitocondriale și a alterării proteinelor mitocondriale (Folette, cit. 59). Acest efect constant toxic mitocondrial, constatat pe culturi de celule, este o componentă a toxicității reversibile, dar este posibil ca, pe un fond genetic deficitar, să contribuie și la constituirea reacției idiosincrazice.

Modificările reversibile produse de cloramfenicol sînt puternic favorizate de stări patologice asociate — renale, hepatice, stări dishematopoetice (47); la bolnavii cu anemie feriprivă sau megaloblastică, efectul terapeutic al Fe sau vit. B_{12} este întîrziat de administrarea concomitentă a cloramfenicolului.

O cauză a intervenției toxice constante a cloramfenicolului a fost considerată prezența în structura sa chimică a nucleului nitro-benzen (11, 35, 60). Un argument în acest sens este constituit de constatarea că și tiamfenicolul produce acest tip de modificări.

Acțiunea toxică reversibilă încetează la intervale variabile de timp după oprirea administrării drogului.

2. Reacția adversă cea mai redutabilă este reacția idiosincrazică, *aplazia medulară*. Nu există criterii morfologice sau clinice care să o deosebească de o aplazie de altă origine (26).

După Bernard, aplazia medulară post-cloramfenicol apare mai ales în cazul administrării prelungite sau repetate, indiferent de doze, precum și în caz de asociere cu un alt produs aplaziant, ca hidantoinele (6 b).

Este cert că există o sensibilitate individuală a anumitor subiecți cu probabil determinism genetic. În acest sens, unele studii arată că, în culturile de măduvă osoasă de la bolnavi aflați în fază de remisiune a unei aplazii induse de cloramfenicol și de la rudele acestora, o concentrație de 20—50μg/ml, de cloramfenicol este suficientă pentru a inhiba semnificativ sinteza de ADN marcat (59, 60), față de concen-

Scanned with OKEN Scanner

trația de 250μg/ml, citată mai sus ca necesară pentru producerea aceluiași fenomen în măduva normală. Se poate menționa ca argument și cazul a doi gemeni monozigoți care au dezvoltat ambii tulburări severe după terapia cu cloramfenicol (Fernbach, cit. 7).

S-a incriminat de asemenea o lipsă a excreției drogului de către cei care dezvoltă anemii aplastice, astfel că sînt atinse concentrații medulare ce ar putea inhiba sinteza de ADN chiar la normali. S-a pus și ipoteza unui grad de inhibiție medulară genetic determinată, subclinică, ce ar putea fi evidențiată de cloramfenicol. A fost suspicionată și atingerea într-un înalt grad a celulei tulpină (59). Intervenția nocivă, declanșată de aplazie a cloramfenicolului pe acest teren a fost pusă pe seama prezenței în structura sa a nucleului nitrobenzenic și a efectelor citate mai sus asupra metabolismului acizilor nucleici, mitocondriilor și, deci, a sintezei proteice.

S-a considerat că antibioticul ar putea avea și o influență negativă asupra diabazei medulare (46).

A fost incriminată și intervenția unui mecanism disimunitar (11, 35, 60). Astfel, la unii dintre subiecții care au dezvoltat reacția idiosincrazică, preexista un teren imunologic deficitar (alergii la diferite medicamente, sensibilitate anormal crescută la infecții). Pe acest fond, cloramfenicolul a produs, probabil prin efecte imunosupresive sau chiar de haptenă, o adîncire a deficiențelor imune, cu efect idiosincrazic.

Reacția aplazică apare în majoritatea cazurilor după întreruperea terapiei. Într-o statistică a lui Wintrobe, ea s-a instalat în 50% din cazuri după 38 de zile, la 10% după 130 de zile și numai la 23% reacția a apărut în timpul terapiei (63).

Evoluția aplaziei se etalează pe o lungă perioadă și duce de obicei la exitus (50—80%). Se consideră orice revenire din aplazie ca discutabilă. Urmărind subiecți care au dezvoltat complicația, mai mulți autori conchid că măduva păstrează o fragilitate inaparentă clinic, o stare de meiopragie care se manifestă cu ocazia intervenției oricărei noxe (infecțioase, toxice), recăzînd în starea de aplazie (46). Pot apărea ulterior stări preleucemice sau chiar leucemii. Nu există dovezi că urmărirea sîngelui periferic repetată în cursul terapiei ar putea surprinde modificări premonitorii instalării aplaziei medulare.

După cloramfenicol, sau alături de el, în producerea aplaziilor sînt incriminate piramidonul și fenilbutazona împreună cu compușii înrudiți. Proporția este de 5,9% într-o serie de 222 bolnavi tratați (57). În Suedia frecvența aplaziei după fenilbutazonă ar fi de 1 : 33 000, iar după oxifenilbutazonă de 1 : 99 000 (24).

Mecanismul de afectare medulo-osoasă nu este clar. Complicația survine atît după tratamente îndelungate cît și după cele de durată

scurtă. Se citează decese după o săptămînă de tratament cu 30 tb. oxifenilbutazonă.

Instalarea este insidioasă, precedată de trombocitopenie, agranulocitoză sau anemie severă, aregenerativă (30, 57).

Sărurile de aur constituie o medicație cu mare risc aplaziant, prin mecanisme toxice sau alergice (44).

2. Anemii megaloblastice

Acest tip de implicație centrală postmedicamentoasă este mai puțin comun (29). Se datorește fie afectării metabolismului vit. B_{12}, fie al acidului folic. Vitamina B_{12} este utilizată în organism de către țesutele cu creștere și multiplicare rapidă sub formă de cobalamină, care, fixată pe ribosomi și transformată în desoxiadenosilcobalamină, convertește ribonucleotizii în desoxiribonucleotizi și stimulează astfel sinteza precursorilor ADN. Acidul folic este activ sub formă de acid tetrahidrofolic, format sub influența dihidrofolatreductazei hepatice. Rolul acidului THF este sinteza și transferul grupelor metil. Sub influența acestuia se produce sinteza timidilatului, necesar sintezei de ADN. Reacțiile THF sînt strîns legate de ale vit. B_{12}. Ele sînt active în țesuturile cu metabolism intens, categorie din care face parte și măduva osoasă (52, 58). Orice intervenție în sinteza, absorbția, sau activitatea acestor coenzime duce la acumulare de celule în faza premitotică, de sinteză a ADN, uneori apariția de celule poliploide, cu scădere a numărului de elemente mature funcționale. Agenții medicamentoși care intervin în mecanismele discutate sînt (18, 20, 24, 26, 29, 36, 38, 40) :

— blocanții sintezei de purine și pirimidine : 6-MP, azathioprina, tioguanina, 5-FU, 6-azauridina, citozinarabinozida, hidroxiureea ;

— inhibitorii absorbției folaților : anticonvulsivantele — hidantoindionele, barbituricele în doză anticonvulsivantă, anticoncepționalele orale ;

— inhibitorii dihidrofolatreductazei : metotrexat, pirimetamină, trimetoprim, triamteren ;

— inhibitorii metilării THF : cicloserina, HIN, nitrofuranii, glutetimida ;

— agenții interferînd absorbția vit. B_{12} : PAS, neomicina, sulfamidele antibacteriene, antidiabetice.

Megaloblastoză netă, în cazul tratamentului cu citostatice, se observă la citozinarabinozidă și hidroxiuree. Nu este un fenomen de luat în seamă față de boala de bază și celelalte riscuri terapeutice (de ex., aplazia medulară).

Trimetoprimul, agent antimicrobian din compoziția cotrimoxazolului (prep. Biseptol, Septrin, Septran etc.) (18, 24), acționează asupra dihidrofolatreductazei bacteriene de 50.000 de ori mai intens decît asupra celei umane. Poate da însă tulburări la copii sau la bolnavii aflați la limita depresiei folaților. Administrarea de acid folic se poate asocia în aceste cazuri, nefiind utilizat de organismele bacteriene invadante.

Anemiile megaloblastice după anticonvulsivante (24, 36, 40) se produc fie prin blocarea absorbției folaților (mecanisme încă neclare), fie prin inhibiția transportului activ al glucidelor, cu care folații alcătuiesc compuși absorbabili, fie prin modificarea pH-ului și inactivarea carboxipeptidazei, care generează acidul monoglutamilpteroilglutamic absorbabil. Stările de carență (consum crescut, aport scăzut) potențează acțiunea acestor medicamente, astfel că epilepticii spitalizați timp îndelungat dezvoltă boala mai frecvent (36). Administrarea de acid folic normalizează tabloul hematologic.

3. Agranulocitoze de origine centrală (tip „clorpromazină")

Orice medicament care poate cauza o aplazie medulară poate fi răspunzător și de o neutropenie izolată de tip central. Agenții leucopenizanți pot fi grupați în (3, 6, 20, 36, 57): agenți constant asociați cu leucopenie, așa cum sînt citostaticele și agenți ocazional producători de leucopenii: *analgetice*: amidopirina, dipirona, fenilbutazona și drogurile care le conțin; *fenotiazine*: clorpromazina, promazina, mepazina, imipramina, prometazina, tioridazin; *sulfamide*: antibacteriene —sulfanilamida, sulfizoxazol, sulfametoxipiridazina, sulfatiazol; nebacteriene — clortiazida, carbutamida, tolbutamida; *antitiroidiene de sinteză*: tiouracil, metimazol, carbimazol; *tranchilizante*: meprobamat; *anticonvulsivante*: dilantin, trimetadiona, fenacemid, barbiturice (mai rar); *antimicrobiene*: cloramfenicol, ristocetină, meticilină, novobiocină; *diverse*: DNP, penicilamina, metronidazol, diuretice mercuriale, chinina, acid etacrinic.

După Hartl (25) se pot considera granulocitopeniile ca fiind de două tipuri, în funcție de mecanismul de producere: de tip central, „clorpromazină", și periferic, de tip „piramidon", prin predominanța distrugerii periferice.

Atingerea de tip central se poate ivi după oricare din drogurile citate mai sus, dar mai ales după fenotiazine, sulfamide și antitiroidiene de sinteză (25, 63). La aceste medicații afectarea survine după tratament prelungit, trei săptămîni — cinci luni pentru sulfamide, debutul fiind insidios. Incidența după fenotiazine ar fi de 0,1 — 1% (Huguley, Pisciotta cit. 27).

Scanned with OKEN Scanner

Leucopenia este severă, asociindu-se uneori cu trombocitopenie și / sau anemie marcată. Măduva osoasă este săracă, cu absența liniei granulocitare și/sau roșii, ori megacariocitare. Dacă bolnavul trece de o eventuală complicație septică, evoluția este favorabilă (20, 25). În granulocitopenia de tip central, simptomatologia insidioasă face adesea greu de depistat intoxicația de la început, iar tratamentul citopenizant se continuă pînă la instalarea agranulocitozei (25, 29).

Mecanismul de acțiune se consideră a fi toxic direct asupra măduvei osoase. El s-ar exercita asupra tuturor măduvelor, indiferent de susceptibilitatea individuală, dar ceea ce conduce la unii subiecți la granulocitopenie ar fi diferențele de compensare a acestui efect (Pisciotta cit. 25, 36). Clorpromazina produce inhibarea sintezei de ADN cu timidină H_3 marcată în culturi de măduvă osoasă. Celulele subiecților sensibili au un indice mitotic mai scăzut decît la normali. Activitatea specifică a ADN-ului după incubarea cu timidină tritiată este de trei ori mai scăzută la sensibili decît la normali, chiar fără adăugarea toxicului în cultură (numărul de colonii granulocitare *in vitro* la sensibili este de 1/2 față de numărul coloniilor de la normali pentru aceeași cantitate de celule medulare puse în cultură în condiții normale). Dacă normalii pot asigura un număr satisfăcător de granulocite chiar după adăugarea toxicului, astfel că efectul acestuia nu se observă clinic, măduva osoasă a sensibililor nu mai proliferează suficient în aceste condiții pentru obținerea unei leucocitoze normale (36) ; astfel se instalează o granulocitopenie toxică progresivă spre agranulocitoză. Sensibilitatea este totuși rară (1 : 1/300) (25, 36).

4. Trombocitopenii de origine centrală

Trombocitopeniile de origine medicamentoasă se împart și ele, în funcție de mecanism, în trombocitopenii prin inhibarea megacariopoiezei și trombocitopenii periferice, prin distrugere toxică sau imunoalergică(63).

Este de remarcat totuși că această clasificare este destul de arbitrară ; ca și la atingerile liniei albe, este greu de precizat prin ce mecanis m își stabilesc efectul citopenizant anumite medicații : de exemplu, fenilbutazona poate exercita uneori efecte inhibitorii asupra megacariopoiezei, dar există și posibilitatea unor efecte toxice directe sau alergice asupra plachetelor în periferie.

Ca și agranulocitozele, trombocitopeniile centrale pot fi produse de orice drog citat ca eventual cauzator de aplazii medulare. Dintre acestea, Fréjaville (20) citează ca droguri generatoare de trombocitopenii prin inhibiție centrală : agenții alchilanți, antineoplazicele, antimeta, boliții, antiroidienele de sinteză, cloramfenicolul, clorochinul, colchicina-diureticele tiazidice, hormonii estrogeni, sărurile de aur, extractele de

pervinca. Cele mai frecvente trombocitopenii se produc însă prin afectare periferică imunoalergică (41) ; dar cele prin afectarea toxică a megacariocitului sînt mai greu reversibile și astfel, de un prognostic mai sumbru (36).

5. Atingeri centrale proliferative

Sînt semnalate în literatură cazuri de leucemie acută survenită după terapia cu fenilbutazonă și cloramfenicol. Într-o statistică australiană pe 55 de cazuri de leucoză acută mieloblastică, 5 primiseră fenilbutazonă (Woodliff, Dougan cit. de 19) ; Hartl comunică 20 de cazuri de leucemie acută survenită după administrarea de fenilbutazonă ; Iensen (cit. de 19, 63) raportează că din 50 de bolnavi de leucemie acută, 3 primiseră aceeași medicație. Între 1960-67, Fraumeni (19) adună din literatură 27 de cazuri de leucemie descrise de diverși autori ca fiind legate de administrarea de fenibutazonă : 5 LGC, 9 LAM, 8 LA limfoblastice, 2 LA cu celule tulpină, 2 leucemii acute monocitare, 1 LLC. Totuși, autorii păstrează unele rezerve privind relația cauză-efect în cazurile citate și se întreabă dacă nu este vorba de simple coincidențe, în sensul că manifestări artropatice incipiente ale leucemiilor, au putut fi tratate cu fenilbutazonă, sau de o eventuală interferență între fenilbutazonă și alte medicații leucemogene, neraportate de evidența primară.

De asemenea, după cloramfenicol au fost descrise cîteva cazuri de leucemie acută mieloidă, un caz de leucemie limfoidă acută (19,46), un caz de leucemie limfoblastică cronică ; acesta din urmă a survenit după administrarea de 450 g cloramfenicol în 11 ani (42).

Relațiile cloramfenicol-leucemie sînt și ele neclare. Ca mecanism, ar intra în discuție rolul aplaziant al cloramfenicolului, dublat de potențialul său mutagen, cu suport biochimic în prezența nucleului benzenic (46). Aceste supoziții teoretice mai necesită verificări experimentale. Studii pe șoareci n.n. au arătat (German, cit. de 35), la doze foarte mari de cloramfenicol, producerea de tumori limfoganglionare de tip „reticulosarcom", care au putut fi transplantate la normali. Totuși, cazurile survenite în clinica umană rămîn discutabile sub aspectul interpretării cloramfenicol-leucemie = cauză-efect.

Au mai fost incriminate ca eventual cauzatoare de leucemii : amfetamina-sulfat, sulfamidele, anticonvulsivantele hidantoine.

Tot ca atingeri hematologice postmedicamentoase au fost raportate cazuri de afecțiuni limfoproliferative : pseudolimfoame, limfoame maligne.

Pseudolimfoamele apar după hidantoine (aproximativ 100 de cazuri din 1940 pînă în 1976) (5). Se caracterizează prin adenomegalii generalizate, febră 39—40°, prurit, scădere ponderală. Histopatologic, se constată

dispariția arhitecturii normale a limfoganglionului, infiltrat cu celule limfoplasmocitare, eozinofile și neutrofile, hiperplazie „reticulară", mitoze numeroase, plaje de necroză. Fenomenele dispar după oprirea tratamentului inductor, în cîteva săptămîni.

Limfoamele maligne pot să se instaleze tot după tratamente îndelungate cu hidantoine. Pe 85 dintre cazurile de limfoame maligne ale lui Anthony, 4 erau comițiali tratați cu hidantoine. Se presupune ca mecanism posibil o alterare a capacității imunologice sub influența hidantoinelor, constatîndu-se în acest sens scăderea IgA, a complementului și deprimarea apărării celulare (34). Între limfoamele maligne posthidantoine au fost semnalate și cazuri de boală Hodgkin (5, 53). Două cazuri de limfosarcom după fenilbutazonă au fost relatate de Fraumeni (19).

După tratamente, îndelungate de obicei, cu hidantoine, fenobarbital, sulfonamide, penicilină, poate să apară un proces limfoproliferativ particular, situat la limita între procesele proliferative reactive și sarcomul imunoblastic, limfadenopatia angioimunoblastică (p. 66).

În toate cazurile descrise se impune a fi menționată contribuția majoră a terenului reactiv al acelora care au dezvoltat complicația.

Semnalăm că au fost descrise *agranulocitoze* de origine medicamentoasă cu *reacție medulară pseudomielomatoasă.* Un astfel de caz am întîlnit și noi, după fenilbutazonă. În măduva osoasă, care era intens hipoplazică pe seria neutrofilă, se găseau 200 plasmocite la 100 de elemente ale seriei granulocitare.

Plasmocitoza intensă medulo-osoasă este expresia unei bune apărări imunologice, ea coincizînd întotdeuna cu o evoluție rapid favorabilă a agranulocitozei, fapt care s-a confirmat și la bolnavul nostru. S-a afirmat că plasmocitele sintetizează anticorpii specifici ai complexului medicament-proteină și poate imunoglobuline care suplează mijloacele de apărare ale granulocitelor deficitare (47 bis). Au fost decelați anticorpi specifici la un caz de agranulocitoză însoțită de plasmocitoză medulo-osoasă (34 bis).

Porfirii secundare

Unele medicamente exercită inhibiție asupra sintezei normale a protoporfirinei hemului, ducînd la acumularea de precursori, — porfobilinogen, uroporfirină I și III și la declanșarea de porfirii secundare. Biochimic, se pare că sedormidul, sulfonalul, griseofulvina, activează o genă necesară producerii de aminolevulinic-sintetază, cu producere în exces a acestui precursor limitant; același efect l-ar avea acidul orotic, etionamida (15, 20).

În prezența unei porfirii genetice, tulburare care afectează în mică măsură și măduva osoasă, în forma acută intermitentă, admi-

nistrarea de antipaludice, barbiturice, cloroform, cocaină, diuretice mercuriale, fenilbutazonă, piramidon, sulfamide, anticoncepţionale orale (9), poate declanşa o criză dramatică. Singurul tranchilizant fără risc este clorpromazina (20).

B. Tulburări hematologice postmedicamentoase de tip periferic

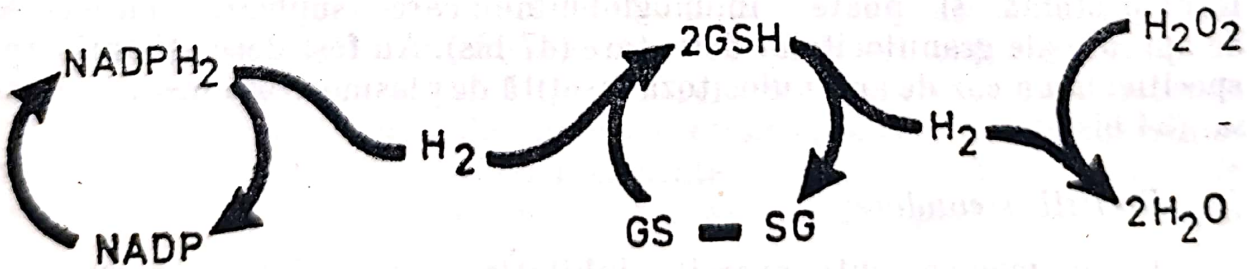
1. Anemii

În anemiile postmedicamentoase de origine periferică drogul poate interveni în trei moduri :

a) demascînd anomalii genetice deja existente ;
b) declanşînd dezordini imunologice ;
c) distrugînd hematia prin efect toxic direct ;

a) Demascarea anomaliilor enzimatice deja existente

Metabolismul eritrocitelor adulte are ca substrat fundamental glucoza : glicoliza 90% şi şuntul pentozofosfaţilor 10% (52, 58). Finalitatea metabolismului eritrocitului adult este asigurarea unei perfecte integrităţi morfo-fiziologice a membranei şi păstrarea unui pH convenabil activităţii respiratorii a hemoglobinei. Energia pompelor active membranare care asigură aceste procese se realizează prin glicoliză, care furnizează ATP. Ciclul pentozofosfaţilor procură $NADPH_2$, necesar sistemelor reductoare celulare, răspunzătoare de protecţia proteinelor membranei şi a hemoglobinei faţă de agenţii oxidanţi :



Cea mai frecventă anomalie enzimatică genetică este deficitul de G6PDH, enzimă limitantă în ciclul pentozofosfaţilor. În absenţa sa, se produce insuficient $NADPH_2$ cu scăderea capacităţilor reductoare ale glutationului, ceea ce antrenează riscul alterării membranei celulare de către oxidanţi, cu hemoliză consecutivă, şi al methemoglobinemiei, ca expresie a lezării oxidative a hemoglobinei, aceasta în grade variabile (15, 20, 36, 52, 58, 63). Crizele de hemoliză pot duce la insuficienţă renală acută, necesitînd uneori exsanghinotransfuzie

sau epurare extrarenală. Aceasta face imperioasă cunoașterea anomaliei și evitarea drogurilor declanșante. Medicamentele care declanșează criza, ades cînd sînt administrate în doze mici, sînt (20, 36, 37, 38, 39, 43, 49) : primachina, chinina, fenacetina, amidopirina și derivații, acidul acetilsalicilic, PAS, nitrofuranii, sulfamidele, salicilazosulfapiridina, probenecidul, vit. K de sinteză hidrosolubile, cloramfenicolul.

O altă anomalie genetică demascată uneori de priza de droguri este prezența hemoglobinelor anormale. Hemoliza, prezentă discret în condiții cotidiene, este exacerbată de tratamente cu sulfamide, antipaludice. Acest fapt a fost bine demonstrat pentru Hb Zürich (36).

b) Distrugerea membranei eritrocitare prin mecanisme imune

Această acțiune depinde de terenul imunologic reactiv al subiectului. Răspunsul este adesea insesizabil sau nenociv. La un număr de surori medicale studiate de Levine și col., 97% aveau anticorpi antipenicilină de tip IgM. Doar 14% aveau IgG, care dau reacție hemolitică (1). Tot de modalitatea de răspuns a organismului depinde și tipul de citopenie periferică produs (14). Anticorpii citopenizanți pot produce anemii hemolitice, trombocitopenii sau neutropenii, probabil în funcție de tipul de imunoglobulină produs (14).

1. *Hemoliza de natură imunoalergică* se poate produce prin anticorpi îndreptați contra drogului ca atare sau a drogului ca haptenă (1, 2, 3, 13, 20, 22, 36, 43, 52, 54, 63). Medicamente ce produc hemoliză : PAS, amidopirină, antazolina, clorpromazina, heptaclorofen, izoniazidă, insulina, rifampicina, cefalosporine, nitrofurazol, chinina, chinidina, sulfapiridina ; cel mai frecvent intervin prin acest mecanism fuadinul și penicilina.

Există două ipoteze de producere a acestui tip de citopenie imunoalergică : prin mecanisme hiperergice a) de tip II cu Ac citotoxici, sau b) de tip III, după clasificarea Gell-Coombs.

a) În primul mecanism, drogul, în calitate de antigen solitar, se poate fixa pe membrana celulară sau poate forma o haptenă cu o macromoleculă membranară ; anticorpii vor fi dirijați contra drogului și se va produce liza celulei (Acroyd). Aceasta liză are loc cu activarea secvențială a componentelor complementului seric pînă la fracțiunile C8 și C9, cu distrugerea membranei suport, local, direct. În liza celulei intervine și fenomenul de imunaderență, caracterizat prin intervenția fagocitelor, cu locusuri specifice pentru fracțiunea C_{3b}, care activată fiind, se fixează ferm pe membrana celulară (20, 22, 43, 58, 62) (fig. 48 I, 49).

b) În mecanismul de tip III Gell-Coombs, drogul reacționează cu anticorpul dirijat contra sa ca antigen solitar sau ca haptenă într-un compus drog-macromoleculă plasmatică. Complexul drog-anticorp sau drog-macromoleculă plasmatică-anticorp se fixează pe membrana celulară. Complementul se fixează pe complex, este activat secvențial și se produce liza celulei. Și în cazul fixării complexului drog-

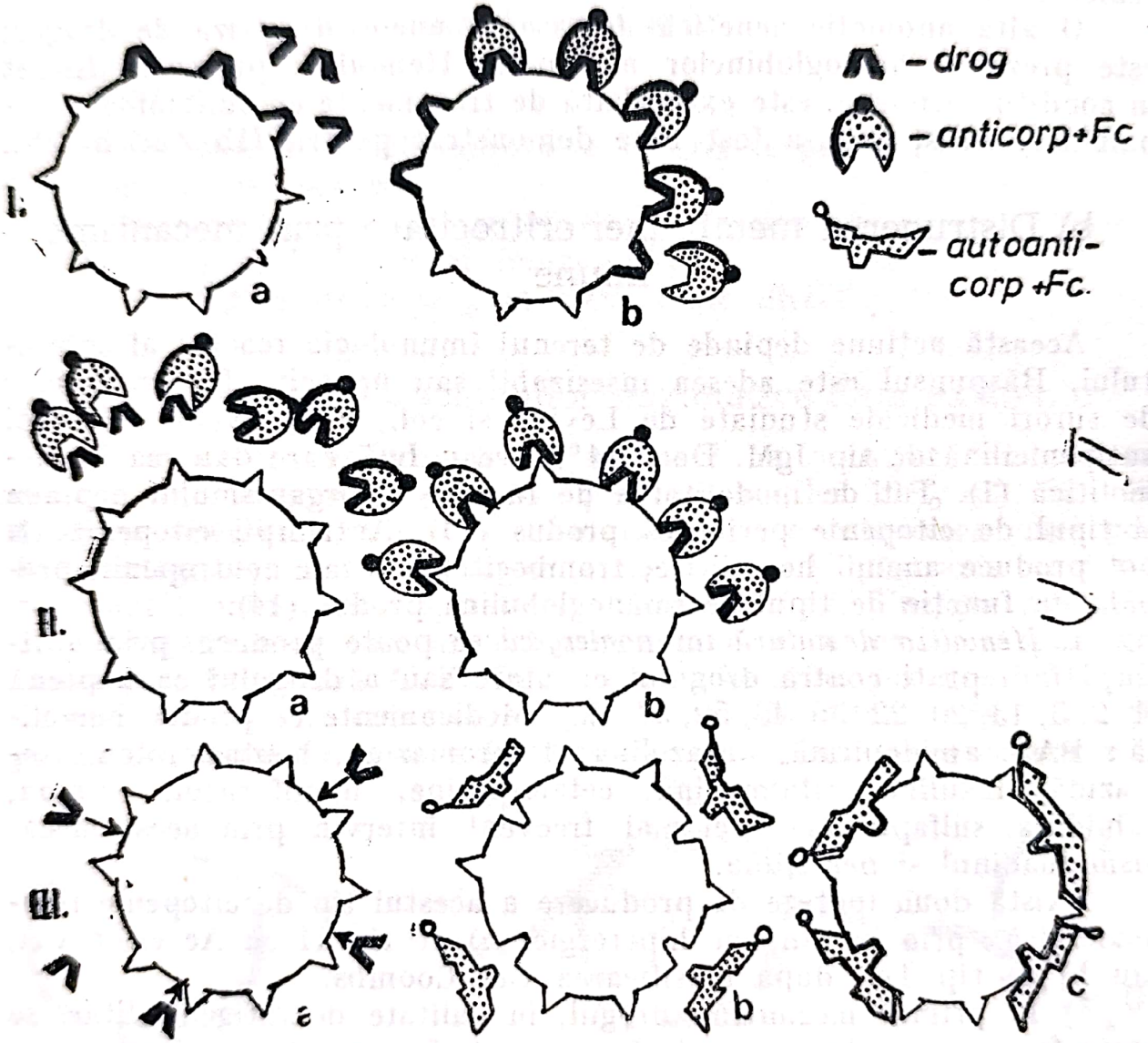


Fig. 48

Mecanismele imunologice ale citopeniilor medicamentoase

I. Drogul formează un complex cu o proteină membranară (a). Anticorpul dirijat contra sa se fixează pe complex, ducînd la liza celulei (b).

II. Drogul singur sau formînd un complex cu o proteină plasmatică, induce producerea de anticorpi (a). Complexul antigen-anticorp astfel format se depune pe celula-țintă, ducînd la liza acesteia ca „innocent bystander".

III. Drogul acționează asupra celulei, producînd modificarea structurii sale antigenice (a). Contra structurii sale modificate se produc autoanticorpi (b), care se fixează pe celulă (c), conducînd la liza acesteia.

Scanned with OKEN Scanner

anticorp pe membrană intervine fagocitoza : prin activarea complexului complement, cu precădere a fracțiunii C_{3b}, se declanșează fenomenul de imunaderență descris mai sus, iar prin activarea fracțiunilor

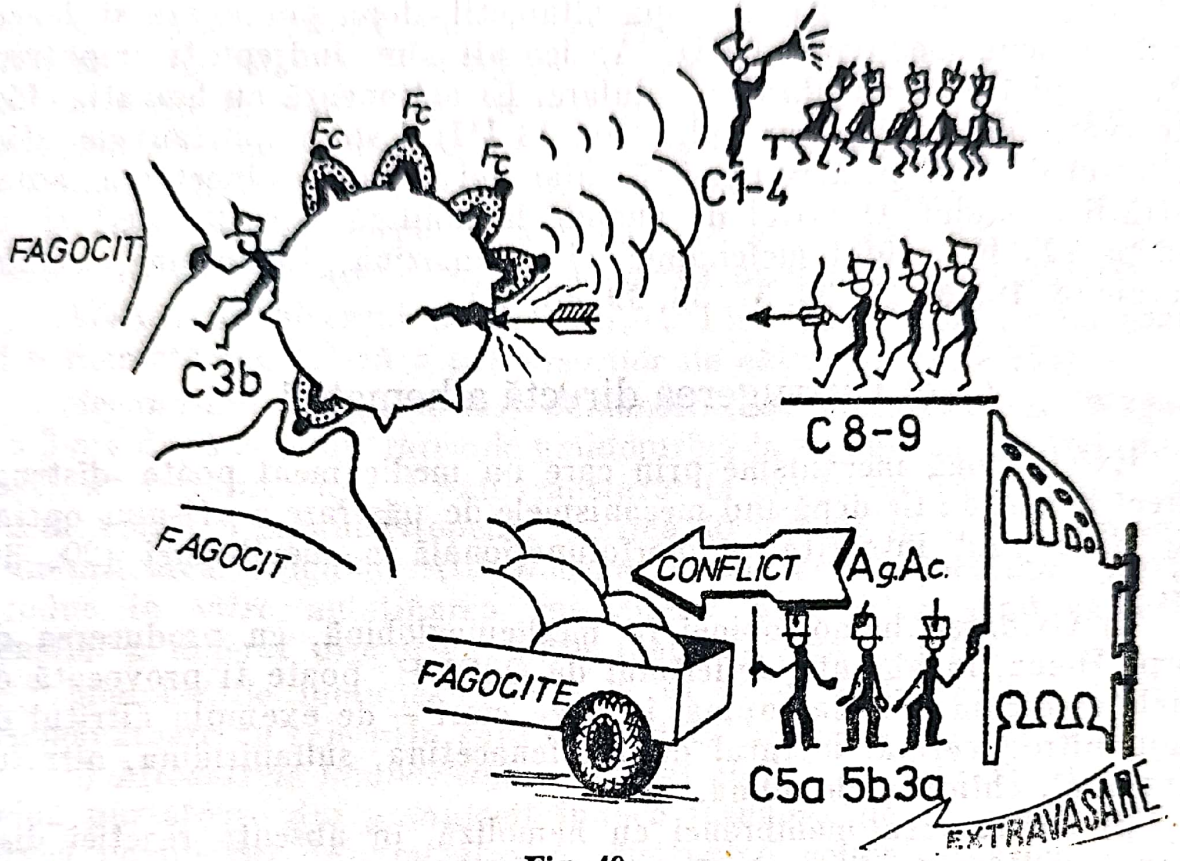


Fig. 49

Schemă simplificată a modului în care are loc citoliza celulei prin activarea sistemului complement

Fracțiunea Fc activează unitatea de alarmă a complementului (C1—4). Se amorsează citoliza prin unitatea citolitică reprezentată de C8—9, iar fracțiunile C5a, 5b, 3a facilitează afluxul macrofagelor spre locul conflictului antigen-anticorp. Aici se declanșează fenomenele de aderență opsonică (prin receptorul Fc al anticorpului) și imunaderență (prin C3b, care este strîns atașat celulei) ; astfel are loc fagocitarea celulei agresate.

C_{3a} (anafilatoxina), C_{5a} și C_{5b}, cu puternice proprietăți vasodilatatorii, crește afluxul de leucocite spre zona respectivă. Se produce de asemenea fenomenul de aderență opsonică, dată fiind prezența în structura anticorpului de tip IgA sau IgM a fracțiunii Fc. Fagocitele au locusuri pentru această fracțiune prin intermediul cărora formează complexe cu celula pe care o fagocitează. După Dreyfus, fenomenul ar putea fi numit „hemoliză pasivă in vivo", evocînd mecanismul de distrugere imună indirectă de tip III Gell-Coombs. Testul Coombs indirect efectuat cu hematii sensibilizate în prealabil la drogul respectiv este pozitiv, atestînd prezența de anticorpi incompleți și în ser (14, 20, 43, 52, 62, 63) (fig. 48 II, 49).

2) *Hemoliza prin mecanisme autoimune* (hemoliza de tip alfametildopa). Este vorba fie de o alterare minimă a membranei eritrocitului prin drog, fie de o acțiune directă asupra sistemului imunocompetent, susținută de constatarea că după alfametil-dopa pot apare și leucopenii, aplazii medulare, LED. Anticorpii sînt îndreptați împotriva antigenului Rh al membranei celulare. Ei acționează cu hematia fără intervenția decelabilă a drogului (fig. 48 III). Este important de știut că testul Coombs pozitiv persistă chiar doi ani de la încetarea administrării drogului. O astfel de anemie hemolitică este produsă și de L-dopa (25 b), acidul mefenamic, clorpromazină, hidantoine, cefalosporine (8, 16, 20, 22, 33, 37, 38, 39, 48, 63).

c) Distrugerea directă a hematiei

Există două mecanisme prin care un medicament poate distruge direct hematia : fie depășind mecanismele de păstrare a pH-ului optim, fie distrugînd integritatea morfofuncțională a membranei (20, 36, 52, 58).

1) Oxidarea hemoglobinei în methemoglobină, cu producerea de corpi Heinz, în absența deficitului de G6PDH, poate fi provocată de unele medicamente, dar numai în doze mari — de exemplu nitritul de amil, nitroglicerina, nitratul de Bi, fenacetina, sulfapiridina, nitrofurantoinul, chinina, chinidina.

2) Distrugerea membranei cu hemoliză, în absența reacției disimunologice, poate fi produsă de : soluții hipotone, apa distilată, griseofulvina, amfotericina B, derivați de hidrazină.

2. Granulocitopenii medicamentoase prin distrugere periferică

În afara blocării granulocitopoiezei medulare, medicamentele pot genera procese imunoalergice îndreptate contra PN circulante și conducînd uneori pînă la agranulocitoză. Tipul reprezentativ este reacția la piramidon și derivații săi (14, 20, 23, 25, 28, 29, 36, 37, 38, 39, 49, 63). Alte medicamente care dau neutropenii prin același mecanism : fenacetina, sulfapiridina, penicilinele, cefalosporinele, clindamicina, vancomicina, sulfatiazolul, compușii de aur, meprobamatul, etambutolul, diureticele mercuriale, aldactona, tioridazina, fenilbutazona, propiltiouracil, clorpropamida, metiamida (20, 29, 63), levamisol (31 bis, 32). Recent am avut în observație un caz de agranulocitoză (3 200 G.A. cu P.N. 0,5%, după fenilbutazonă, 5 supozitoare a 250 mg).

Frecvența producerii agranulocitozei după piramidon ar fi de aproximativ 1% — 1‰ (29). Scăderea granulocitelor la un subiect sensibilizat are loc începînd de la 24 de ore de la ingestia drogului.Ele

reapar în sînge la 5—10 zile de la încetarea administrării. Dacă între timp apare o infecție, survine febră ridicată, necroze fără puroi, mortalitatea fiind de 50—80%, (14, 25, 29, 63). Aspectul sîngelui periferic este de agranulocitoză aproape completă, (200 PN/mm³ într-un caz citat de Goudemand). În măduva osoasă se găsește de obicei un blocaj de maturație în stadiul de mielocit sau promielocit. La două zile după administrarea de amidopirină se observă o dispariție aproape completă a promielocitelor, mielocitelor și metamielocitelor medulare, în timp ce PN mature sînt normale ; acestea scad apoi, maximum de scădere fiind la 5 zile. În acest timp distrugerea periferică este maximă (63).

Alături de blocajul de maturație, Tsan găsește în cîteva cazuri și o marcată fagocitoză a precursorilor de către histiocite (55).

Mecanismul alergic a fost demonstrat de Moeschlin și Wagner. La 3 ore după administrarea de amidopirină la un subiect sensibil (doză-test), au recoltat sînge și l-au transfuzat la doi primitori sănătoși, care au dezvoltat o granulocitopenie la circa 40 minute pînă la 4 ore de la administrarea drogului. Atît plasma cît și serul subiecților sensibili produc in vitro aglutinarea leucocitelor normalilor, cînd subiectul sensibil a ingerat drogul cu puțin înaintea recoltării (63).

Modalitățile ipotetice prin care se produce distrugerea PN sînt asemănătoare cu cele prin care se produce hemoliza (fig. 48, 49).

a) *Mecanisme imunoalergice.* Drogul cuplat ca haptenă cu o proteină purtătoare din granulocit induce formarea de anticorpi care ar ataca complexul drog-membrană, distrugînd celula (Ackroyd, 1963), (14, 22, 28, 36, 43). Sau drogul ca haptenă, cuplat cu o proteină plasmatică, induce anticorpi antidrog. Complexul Ag-Ac format se fixează pe suprafața celulei și cu activarea sistemului complement, se distruge membrana celulară (Moeschlin, Shulman). Aceste mecanisme sînt de tip citotoxic, hiperergic II după Gell-Coombs, sau, respectiv III, prin distrugere imună directă, similare celor descrise pentru hemoliză (43).

b) *Mecanisme autoimune.* Proteina granulocitului este modificată de către drog, nu mai este recunoscută drept self de către sistemele imunocompetente (Dausset). Granulocitul se acoperă de anticorpi și este fie distrus direct prin intervenția fracțiilor C_8 și C_9, fie fagocitat. Anticorpi s-ar putea forma și împotriva granulelor microzomale ale granulocitului (Bock). Totuși mecanismul imunoalergic cu afectare strict periferică nu explică prezența hipoplaziei globale sau selective întîlnită într-un număr de cazuri. Flandrin (17), a emis ipoteza unei toxicități centrale inițiale (1971). Faptul că în periferie apare doar o granulocitopenie s-ar datora timpului diferit de viață și duratei diferite de maturație intramedulare a diverselor serii.

Nici una din teorii nu explică ansamblul observațiilor. Poate conjugarea ipotezelor periferice cu cea centrală ar furniza o explicație mai

Scanned with OKEN Scanner

acceptabilă (25). O astfel de explicație pare să fie furnizată de Lo Buglio în 1976 (34b).

Citînd pe Cline, acesta aduce în discuție un caz la care exista o leucocitopenie în prezența unor autoanticorpi IgG și IgM, care se pare că exercitau atît un efect citotoxic periferic cît și un efect de blocare a precursorilor medulari prin intermediul unor antigene comune. Autorul consideră că acest mod de producere a granulocitopeniei poate apare după diverse etiologii, citînd-o și pe cea posibil medicamentoasă. Oricum, riscul apariției acestei complicații după amidopirină și derivați este atît de mare, încît în Marea Britanie ei nu se mai utilizează, iar pentru rest, hematologi de mare prestigiu (Wintrobe, Huguley), recomandă o limitare maximă a întrebuințării lor (28).

3. Plachetopenii postmedicamentoase prin distrugere periferică

Ca și pentru celelalte două serii, plachetopeniile de origine periferică se datoresc unei distrugeri a plachetelor fie prin mecanism imunoalergic, fie toxic direct.

a) Medicamente care produc trombocitopenii imunoalergice sînt foarte numeroase (12, 14, 20, 22, 24, 41, 56, 57, 62, 63) : chinina, chinidina, acetazolamida, amidopirina, antazolina, antipirina, fenilbutazona, bromfeniramina, ergotamina, clonazepam, săruri de aur, cloramfenicol, clorotiazida, hidroclorotiazida, izoniazida, novobiocina, PAS, fenolftaleina, rifampicina, streptomicina, sulfametoxipiridazina, cefalosporinele, clindamicina, penicilina etc. Recent am avut în observație două cazuri de plachetopenii cu valori de 3 000/mmc și respectiv 48 000/mmc după streptomicină, iar un alt caz după talazol (3 000 plachete/mmc).

Orice drog administrat înaintea declanșării unei plachetopenii poate fi suspectat în principiu de a o fi indus. Manifestările clinice sînt grave, cu hemoragii cutanate și viscerale care pot fi fatale. Plachetopenia este intensă, dar plachetele se refac brusc la 2—3 zile după oprirea administrării drogului.

Mecanismul de producere a fost studiat mai ales pentru chinină și sedormid (retras din uzul terapeutic datorită reacțiilor sale adverse). După administrare de sedormid, la 30 — 60 minute, apare purpură și trombocitopenie. Liza plachetelor este produsă de factori plasmatici, activi în prezența sedormidului, fapt demonstrat astfel : 1. serul sensibilului + sedormid produc aglutinarea plachetelor la adăugarea lor în amestec ; 2. la introducerea complementului se produce liza plachetelor. De aici se conchide că sedormidul + plachetele constituie un antigen în care sedormidul este haptena. Nu există relație între doză și efect (41, 63).

Scanned with OKEN Scanner

O altă teorie admite formarea unui complex drog-haptenă-proteină plasmatică, ce determină producerea de anticorpi înalt specifici antidrog (Miescher). Complexul medicament-proteină-anticorp se depune pe membrana plachetei. În timpul reacției Ag-Ac, placheta este distrusă ca „innocent bystander" (14, 22, 36, 42, 63).

b) Un medicament pentru care s-a demonstrat *toxicitatea directă* asupra plachetelor este ristocetina. S-a remarcat totodată dependența efectului de doză (63).

C. Coagulopatii de origine medicamentoasă

În afara efectelor hemoragice pe care le pot avea anticoagulantele, fie prin supradozare, fie prin demascarea unei preexistențe a tendinței la sîngerare, alte medicamente pot provoca sindroame hemoragice prin intervenția asupra diverselor mecanisme ale coagulării (37, 38, 39, 41, 49, 63).

a) Prin hipersensibilizare la antivitaminele K

— unele medicații care distrug flora intestinală : neomicina, tetraciclina, gantrizina ;

— droguri care eliberează antivitamina K de pe proteina purtătoare : fenilbutazona, salicilații, difenilhidantoine ;

— medicamente cu mecanism de interferență neclar : fenotiazinele, chinina, clofibratul, glucagonul, steroizii anabolizanți.

b) Prin efect hipoprotrombinemiant

— la care se adaugă și scăderea altor factori ai complexului extrinsec : salicilații, fenilbutazona, tiouracilul, unele tuberculostatice (PAS, HIN), cloroformul, care acționează fie prin alterarea sintezei protrombinice în celula hepatică, datorită alterării directe a mitocondriilor (hepatotoxicitate), fie prin inhibarea sintezei de vitamina K, competitiv.

Sîngerările apar de obicei la valori de 10% ale timpului Quick, cele mai frecvente fiind epistaxisurile, gingivoragiile, hemoptizia, hemoragiile digestive, hematuriile, purpurele cutanate. Microhematuria precoce poate constitui un semnal de alarmă (41).

c) Prin inducerea unui sindrom de coagulare intravasculară diseminată

Au fost descrise cazuri de CIVD apărute după următoarele substanțe utilizate în doză mare : pirazoloni, paracetamol, amfetamine,

Scanned with OKEN Scanner

dextran, antitiroidiene, asparaginaza, antivitaminele K, antifibrinolitice, lipiodol (21, 41, 49).

d) Activatoare ale fibrinolizei, în afara strepto – și urokinazei.

Aici se citează : medicația antidiabetică : insulina, sulfonilureele (tolbutamida, clorpropamida), biguanidele ; extractele hipofizare, testosteronul ; furosemidul, clofibratul, procaina, acidul nicotinic (complamin i.v.).

Sîngerările sînt însă minore, fiind vorba de obicei de fibrinolize fruste (41).

* * *

Medicamentele cu toxicitate hematologică sînt numeroase. Repercutările hematotoxice sînt uneori deosebit de grave și ireversibile. Cauzele generale care explică faptul că foarte multe droguri sînt capabile să genereze afectări sanghine par a fi următoarele :

A) Celulele sîngelui sînt supuse, în cursul transportului său plasmatic celei mai mari concentrații de drog din organism. După cum am mai menționat, aceasta înseamnă expunere mare atît la efectul alergizant, cît și la cel eventual toxic. Pe de altă parte, măduva osoasă este cea mai activă masă celulară din organismul mamiferelor. Este firesc ca administrarea oricărui agent cu acțiune asupra metabolismului acizilor nucleici sau respirației celulare, să aibă repercusiuni în primul rînd asupra proliferărilor din măduva osoasă.

Există droguri la care efectul secundar hematologic este regula ; acesta este dependent de doză. El este exprimat clinic în funcție de posibilitățile de compensare ale subiectului expus la drog — de exemplu răspunsul periferic la toxicitatea cloramfenicolului sau tiamfenicolului, cît privește reacția reversibilă.

B) O altă problemă, poate cea mai importantă, este aceea a terenului celui care dezvoltă complicația. Nu toți subiecții prezintă de exemplu anemii aplastice după cloramfenicol, agranulocitoze după piramidon sau fenilbutazonă, anemii megaloblastice după septrin sau hemolitice după penicilină. Concluzia care decurge este că tulburările hematologice produse de către droguri sînt favorizate de un teren anormal. Anomalia poate fi intrinsecă (genetică), sau dobîndită.

a) Anomalia genetic determinată este subclinică și adesea nedecelabilă prin mijloace actuale. Ea se evidențiază în momentul intervenției unei substanțe care acționează foarte probabil în veriga metabolică critică. Efectul poate fi ireversibil și fatal, ca în cazul aplaziilor medulare postcloramfenicol sau reacțiilor proliferative maligne după diferite anticonvulsivante.

Scanned with OKEN Scanner

Un caz reprezentativ de insuficiență medulară subclinică, demascată de medicamente, este reacția „agranulocitoză de tip clorpromazină". Prevenirea unor asemenea reacții se poate face doar prin evitarea sistematică a administrării medicamentelor semnalate în literatură ca fiind cele mai frecvente în cauză, sau prin reducerea administrării lor la cazurile de strictă necesitate : piramidon, cloramfenicol.

b) Alteori anomalia genetică subclinică este decelabilă prin diverse metode actuale, ca de pildă deficitul de glucozo-6-fosfat-dehidrogenază, sau prezența de hemoglobine anormale. Purtătorilor recunoscuți li se va atrage atenția asupra riscului consumului de medicamente. Cum gama drogurilor declanșatoare este foarte largă, ei trebuie să știe că orice drog le poate eventual declanșa hemoliza.

c) Anomalia poate reprezenta un *răspuns imunologic disarmonic* la drogul considerat alergen — de exemplu în seria lui Lévine, în loc de IgM inofensive, unii subiecți prezentau IgG, considerați Ac. citopenizanți (hemolizanți). Sensibilitatea unor astfel de subiecți poate fi testată prin cîteva reacții, al căror principiu va fi pe scurt amintit în continuare. Este vorba de unele teste uzuale pentru depistarea selectivă a citopeniilor (8, 22).

Anemii hemolitice :

— *testul de aglutinare și liză a hematiilor*, (utilizat de Lévine pentru descoperirea alergiilor la penicilină), avînd mai multe variante tehnice ;

— *testul Coombs* direct, pentru decelarea anticorpilor incompleți pe eritrocite, indirect — pentru anticorpi incompleți în ser.

Granulocitopenii

— *testul de aglutinare a leucocitelor* : semnificativă este creșterea puterii aglutinante a serului suspect față de GA normale, în prezența medicamentului incriminat ;

— *fixarea complementului* : semnificativă este prăbușirea titrului complementului în amestecul : GA în suspensie + ser suspect + medicament în ser fiziologic, față de aceeași mixtură din care lipsește însă medicamentul, ca martor ;

— *testul de consum al antiglobulinei*: se compară următoarele reacții : 1. reacția cu ser Coombs a leucocitelor de bolnav, după ce acestea au fost puse în contact cu serul bolnavului lipsit de complement și cu soluție de medicament, apoi centrifugate și spălate ; 2. o reacție martor, parcurgînd aceleași etape și conținînd toate componentele, cu excepția drogului. Un titru scăzut denotă o reacție pozitivă ;

— *cercetarea anticorpilor citotoxici antidrog* : se numără leucocitele distruse (evidențiate prin modificarea permeabilității la albastru de tripan), după contactul prealabil cu drog în soluție și serul bolnavului. Procentul de celule moarte arată caracterul citotoxic al anticorpilor din ser.

Scanned with OKEN Scanner

Trombocitopenii (de notat rapiditatea cu care dispar anticorpii în cursul trombocitopeniilor alergice ; în consecință testele trebuie efectuate în cîteva zile de la producerea accidentului) :

— teste indirecte, cu sensibilitate mică : 1. inhibiția retracției cheagului (Wintrobe), are avantajul de a fi foarte simplu de efectuat ; 2. testul sedimentării trombocitelor ; 3. eliberarea F_3 plachetar în prezența drogului ;

— teste directe :

1. *testul de aglutinare și liză a trombocitelor* : numărătoarea trombocitelor neaglutinate și nelezate din plasma bogată în plachete a bolnavului după incubarea cu o soluție salină de drog ;

2. *testul de fixare a complementului* — titrul complementului trebuie să fie scăzut în ser, după amestecarea sîngelui, înaintea coagulării, cu o soluție salină de drog în ser fiziologic, față de un martor fără medicament ;

3. *consumul de antiglobulină* — tehnica identică cu cea folosită în granulocitopenii, înlocuind GA cu trombocitele.

Nici una din tehnici nu permite depistarea sensibilității la suspecți, ci doar evidențierea unei cauze eventual alergice a unei reacții clinice deja declanșată.

d) În fine, există subiecți normali, la care o simplă carență în cofactori poate fi transformată de o medicație inadecvată, într-un sindrom hematologic ; de exemplu, administrarea de anticonvulsivante fără acid folic asociat, la bolnavii epileptici de multă vreme spitalizați, dezvoltă la aceștia anemii megaloblastice, dat fiind că ei prezintă o carență folică la limită.

Trebuie adăugat în încheiere că marea gravitate a toxicității hematologice a unor medicații ca piramidonul, fenilbutazona, cloramfenicolul, dublată de faptul că mijloacele terapeutice actuale sînt în majoritate inoperante față de aplazii, trebuie să fie mereu în atenția practicianului. Aceste medicații se vor administra în mod excepțional și în cure scurte. Ar fi de dorit ca piramidonul să fie scos din uzul curent. Controalele hematologice repetate sînt obligatorii în cazul administrării de droguri cu risc hematologic ridicat (cel puțin trei controale săptămînale). Tratamentul se va întrerupe cînd GA scad sub 4 000/mmc și PN sub 40%, iar plachetele sub 150 000/mmc.

BIBLIOGRAFIE

1. *Aguero A., Acquatella G., Linares I.* Sangre, 1975, *20*, 345.
2. *Aguero A., Acquatella G., Linares I.* Sangre, 1975, *21*, 205.
3. *Alesio L., Morseli G.* Brit. Med. J., 1972, *110*, 5832.
4. *Andrasy K.* Lancet, 1976, *2*, 1039.
5. *Battlefonrodona J.* et al. Sangre, 1977, *22*, 486.
6. *Bernard J.* Rev. Prat., 1962, *12*, 3249.
6b. *Bernard J.* Vie Méd., 1976, *28/29*, 2313.

Scanned with OKEN Scanner

TRATAMENTUL LEUCEMIILOR ACUTE

de **G. Popa** și **Ecaterina Hanganu**

Ce qui sauve
est de faire un pas.
Encore un pas.
Saint-Exupéry

Date generale asupra chimioterapiei

Tratamentul actual al leucemiilor acute este nesatisfăcător, discutabil și cu un important risc pentru pacient. Ignorarea mecanismului etiopatogenic al neoplaziilor maligne explică lipsa de selectivitate a mijloacelor terapeutice utilizate, astfel încît distrugerea țesuturilor neoplazice se face preferențial, dar nespecific. În condițiile în care radioterapia și imunoterapia au un domeniu restrîns de aplicare, rolul esențial în tratamentul acestora revine chimioterapiei.

1. Bazele biochimice ale chimioterapiei

Neoplaziile maligne prezintă tablouri enzimatice particulare și uneori, metaboliți specifici (de ex., factorul de angiogeneză tumorală — TAF), dar încercările de sintetizare a unor substanțe, care, prin condiționare enzimatică să prezinte acțiune citotoxică „țintită" au eșuat, sau eficiența terapeutică a fost mult sub nivelul scontat. Astfel, Ciclofosfamida, produsă în scopul activării specifice prin fosfatazele și fosfamidazele tumorale, s-a dovedit *in vivo* refractară la acțiunea izoenzimelor tumorale, fiind activată strict la nivelul țesutului hepatic sănătos, deci efectul citostatic este neselectiv. Absența asparagin-sintetazei în unele tipuri de LAL a determinat utilizarea în scop terapeutic a L-asparaginazei, enzimă extrasă din Escherichia Coli sau Erwinia Carotovora și care, catalizînd hidroliza L-asparaginei în acid aspartic și amoniac, inhibă sinteza proteică a clonei respective. Nu s-au realizat însă remisiuni complete în cursul monoterapiei cu L-asparaginază, deși, pe plan biochimic, acțiunea enzimei este selectivă.

Distrugerea preferențială a celulelor tumorale în raport cu țesuturile normale se realizează ca urmare a metabolismului accelerat și fragilității lor particulare, explicată prin lipsa capacității de recuperare a perturbărilor produse de către droguri la nivelul acizilor nucleici.

Citostaticele utilizate în tratamentul leucemiilor acute afectează pe plan biochimic, (Tabel nr. XX):

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL XX

Mecanismul biochimic de acțiune a citostaticelor folosite în tratamentul leucemiilor acute

1. *Inhibarea biosintezei acizilor nucleici.*

a) antagoniști ai acidului folic : Metotrexat ;
b) antagoniști ai purinelor : 6-Mercapto-purina ; 6-Thio-guanina ;
c) antagoniști ai pirimidinelor : 5-Fluoro-uracilul ; 5-Fluor-Dezoxi-uridină ; Azauracilul ; citozin — arabinozidul ;
d) substanțe afectînd biosinteza acizilor nucleici prin alte mecanisme : hidroxiuree, BCNU, CCNU, RFCNU, metil-hidrazină.

2. *Inhibarea duplicării ADN și a biosintezei proteinelor.*

a) agenții alkilanți : derivații de azot-iperită (Clormetină ; Ciclofosfamidă ; Levofalan ; Clorambucil), etilen-imine (Thio-TEPA), esteri sulfonici (Busulfan) ;
b) citostatice interferînd cu transcripția : Actinomicina D ; Daunorubicina ; Adriamicina ; Bleomicina ; 9-metoxi-ellipticina ; Mitramicina ;
c) citostatice inhibînd traducția : Procarbazina ;
d) citostatice interferînd cu repararea ADN : Bleomicina.
e) citostatice afectînd sinteza proteinelor : L-asparaginaza.

3. *Blocarea mitozei.*

Colchicina ; alcaloizii de Vinca Rosea (Vincristina, Vinblastina, Vindesina) ; alcaloizii de Podophyllum Peltatum (VM-26, VP 16.213).

4. *Inhibarea unor mecanisme complexe, hormonodependente.*

— corticosteroizi, androgeni, estrogeni, progestative, hormoni anti-tiroidieni ;
— antiestrogeni : nafoxidină, tamoxifen ;
— antiprolactine : L—Dopa, Bromocriptina ;
— agent suprarenalotoxic (la nivelul cortico-suprarenalei) : p'DDD.

1. biosinteza acizilor nucleici (antimetaboliții, derivații de nitrozuree și posibil, procarbazina) ;

2. duplicarea ADN și biosinteza proteinelor (agenții alkilanți, antibioticele și procarbazina) ;

3. mitoza (citostaticele antimitotice) ;

4. mecanisme complexe, hormonodependente (hormoni și antihormoni).

Cunoașterea acțiunii citostaticelor la nivel biochimic are valoare orientativă în realizarea polichimioterapiei. Se preferă asocierile de droguri care determină :

Scanned with OKEN Scanner

1. *blocarea secvențială*, prin inhibarea unor trepte enzimatice succesive, împiedicînd astfel sinteza unui produs intermediar esențial. De ex., sinteza purinelor poate fi inhibată prin asocierea *6-mercaptopurinei*, care, acționînd la nivelul inozin-monofosfat-dehidrogenazei, blochează transformarea acidului inozin-monofosforic în acid xantilic, cu *azaserina*, antagonist al glutaminei, care intervine în etapa imediat următoare, blocînd transformarea acidului xantilic în guanil-monofosfat ;

2. *blocarea sinergică*, prin inhibarea concomitentă a unor trepte paralele din metabolismul unui produs final. De ex., asocierea *6-thioguaninei* cu *citarabina* blochează sinteza nucleotizilor purinici, respectiv pirimidinici, inhibînd sinteza de ADN ;

3. *blocarea complementară*, prin afectarea multiplă a macromoleculelor intracelulare. De ex., asocierea unui *antimetabolit* cu un agent *alkilant* determină atît inhibarea sintezei ADN, cît și afectarea ADN sintetizat prin realizarea unor punți intercatenare stabile, cu blocarea secundară a procesului de reparare a ADN, duplicare și transcriere.

Indiferent însă de caracterul asocierii citostatice la nivel biochimic, este necesar ca, pe plan clinic, polichimioterapia să prezinte eficiență crescută față de monochimioterapie și toxicitate identică sau redusă (motiv pentru care se preferă asocierile de droguri cu impact toxic diferit asupra țesuturilor normale) (Tabel nr. XXI).

Între abundența datelor biochimice privind metabolismul normal și patologic, modul de acțiune al substanțelor citostatice și posibilitățile lor de asociere pe de o parte și faptele clinice pe de altă parte, există numeroase discordanțe. În stadiul actual al cunoștințelor, explicația biochimică *succede* rezultatelor clinice și nu poate servi ca element de certitudine în aprecierea eficienței terapeutice. Astfel, chimioterapia actuală a leucemiilor acute are încă un caracter empiric. Schemele terapeutice care fac posibilă totuși obținerea unor remisiuni complete de durată, au fost create la hazard, sau, recent, pe baza noțiunilor de cinetică celulară.

2. Bazele citochinetice ale chimioterapiei

Caracterul definitoriu al cineticii maligne este proliferarea rapidă și asincronă, aparent sustrasă mecanismelor de reglare cunoscute. Aprecierea justă a momentului de acțiune a citostaticelor în funcție de fazele ciclului celular reprezintă elementul esențial în alcătuirea schemelor terapeutice actuale.

Fazele ciclului celular sînt (Tabel XXII) : G_1 (de la termenul englez *gap* = gaură, în sensul absenței sintezei de ADN) = perioada de repaos postmitotic ; S = perioada de sinteză a ADN, G_2 = perioada premitotică și M = mitoza. În funcție de momentul acțiunii, citosta-

TABELUL XXI

Efecte secundare *specifice* ale citostaticelor utilizate în tratamentul leucemiilor acute

I. Agenții blocanți ai biosintezei acizilor nucleici.

a. Metotrexat: — ulcerații la nivelul tractusului digestiv;
— rareori: afectare hepatică (steatoză);
— excepțional: paraplegie (în cazul adm. intra-tecale).
b. 6-Mercapto-purina: steatoză hepatică;
c. 5-FU și Citozin-arabinozidul:
— ulcerații ale mucoaselor;
— rareori: hiperpigmentare cutanată, ataxie cerebeloasă.
d. hidroxiureea: — ulcerații ale mucoaselor;
— derivații de nitrozuree: intoleranță digestivă (prin mecanism central); rareori, BCNU determină steatoză hepatică și necroza tubilor contorți.

II. Agenții blocanți ai duplicării ADN și biosintezei proteinelor.

a. Ciclofosfamida: cistită hemoragică;
— Busulfan și Clorambucil: fibroză pulmonară; amenoree, azoospermie.
b. Daunorubicina: cardiotoxicitate la doze depășind 35 mg/Kgc: tulburări de ritm, necroză miocardică.
c. Procarbazina: intoleranță digestivă.
d. Bleomicina: necroză cutanată.
e. L-asparaginaza: afectează sinteza proteinelor la nivel hepatic, determinînd sd. hemoragic secundar; rareori: pancreatită acută; somnolență, comă.

III. Agenții blocanți ai mitozelor.

— alcaloizii de Vinca Rosea: afectare neurologică: parestezii, paraplegie, ileus paralitic (în special VCR, rareori VBL).

IV. Hormonii.

— corticosteroizii: ulcerații digestive; HTA; sd. hemoragic; dezechilibru ionic; tulburări psihice; retenție azotată; diabet; steatoză hepatică.
— androgenii: afectare hepatică, tulburări endocrine.

TOATE CITOSTATICELE DETERMINĂ: APLAZIE MEDULARĂ (cu excepția L-asparaginazei; VCR în doză mică stimulează megacariopoieza); IMUNODEPRESIE; MALFORMAȚII FETALE.

ticele sînt: *a.* eficiente pe toată durata ciclului celular, deci rezultatul este proporțional cu doza și *b.* dependente de o anumită fază a ciclului celular, deci efectul este proporțional cu durata de menținere a concentrației letale pentru celulele în fază sensibilă; pentru celulele care nu sînt în fază sensibilă, drogul este lipsit de toxicitate. În ambele cazuri însă, celulele în *proliferare rapidă* sînt cele mai susceptibile la acțiunea citostaticelor, deci tratamentul distruge deopotrivă celulele

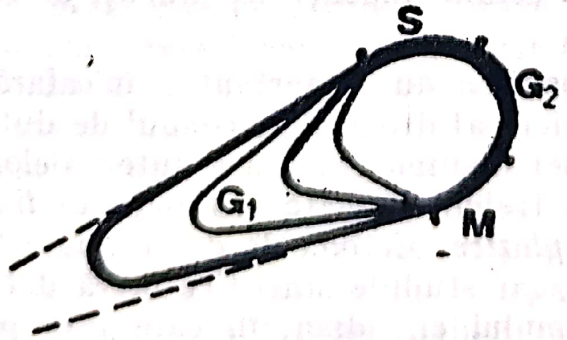
tumorale și cele normale cu ciclu scurt (toxicitate hematopoietică). Citostaticele disponibile în prezent nu acționează asupra celulelor în repaos. Deci, teoretic, sînt cruțate atît celulele normale aflate în G_0,

TABELUL XXII

Mecanismul citochinetic de acțiune a citostaticelor folosite în tratamentul leucemiilor acute

Agenți dependenți de ciclul celular	Agenți dependenți de fază	Faza
1. Agenți alkilanți :	*2. Metil-hidrazina*	S
a. derivați de azot-iperită ;		
b. etilen-imine ;	*3. Antimetaboliți* (cu	
c. esteri sulfonici.	excepția 5-FU) :	
	a. antagoniști ai acidului folic ;	S
3. Antimetaboliți :	b. antagoniști ai purinelor ;	S
numai 5-FU	c. antagoniști ai pirimidinelor ;	S, G_2
	d. antagoniști ai glutaminei.	G_1
5. Antibiotice :	*4. Blocanți ai mitozelor*	
Daunorubicina ;	— colchicina, VM-26, VP 16.213	M
Mitomicina C ;	— vinblastina	G_1,
Adriamicina ;	— vincristina	S, M
Adriblastina ;	*5. Antibiotice :*	
Actinomicina D ;	Bleomicina	S
9-metoxi-ellipticina.	*6. Fermenți :*	
	— L-asparaginaza	G_1
	7. Hormoni :	
	Prednison	G_1
	8. Alte citostatice :	
	Hidroxiureea	S

FAZELE CICLULUI CELULAR



M = mitoza ;
G_1 = perioada postmitotică ;
S = sinteza de ADN ;
G_2 = perioada premitotică.

cît și celulele tumorale, pentru care nu există G_0 propriu-zis, ci o fază G_1 foarte lungă. Pe măsură însă ce se distrug celulele aflate în curs de proliferare, noi celule din G_0 și G_1-lung intră în compartimentul de diviziune rapidă, deci cad sub incidența drogului. Fenomenul este cunoscut sub numele de „*recrutare*". Favorabil în privința terapiei proliferării maligne, fenomenul este redutabil pentru capitalul hematopoietic. În consecință, se impune administrarea drogurilor ciclo- și fazo-dependente în doza maximă tolerată, la intervale relativ mari, deci adoptarea schemelor discontinui, chiar în afecțiunile în care tradiția pare să consacre terapia continuă (LLC, LGC). Schemele discontinui afectează preferențial celulele maligne, diminuînd semnificativ riscul aplaziei medulare toxice.

„*Sincronizarea*" celulelor tumorale prezintă de asemenea importanță terapeutică : citostaticele dependente de fază determină indirect acumularea celulelor la „frontiera" fazei pentru care drogul este activ, iar după încetarea acțiunii acestuia, „cohorta celulară" începe să se dividă sincron. Fenomenul de sincronizare persistă timp de cîteva cicluri celulare și determină creșterea eficienței drogurilor care acționează în altă fază a ciclului celular — criteriu care stă la baza chimioterapiei combinate.

Tipul de impact biochimic al drogurilor cu metabolismul celular determină momentul optim de acțiune în raport cu fazele ciclului. Sinteza de ADN predomină în faza S, în timp ce sinteza de ARN și proteine, în fazele G_2—M—G_1. În consecință, hidroxiureea și bleomicina, antagoniștii acidului folic, purinelor și pirimidinelor (cu excepția 5-FU) acționează în faza S ; în fazele G_2, M, G_1 acționează prednisonul, L-asparaginaza, antagoniștii glutaminei și blocanții mitozelor. Agenții alkilanți și antibioticele care, realizînd legături stabile cu ADN, afectează atît duplicarea sa, cît și sinteza ARN și a proteinelor, acționează pe întreaga durată a ciclului celular (agenți dependenți de ciclu) (Tabelul nr. XXII).

În alcătuirea schemelor terapeutice au importanță, în afară de caracterul dependent de fază sau ciclu al drogurilor, timpul de dublare și ritmul circadian al proliferărilor maligne. Durata intervalelor în cursul chimioterapiei discontinui ar trebui estimată în funcție de *timpul de dublare a populației celulare neoplazice*. Metoda de determinare fiind laborioasă, nu se aplică în clinică, iar studiile statistice oferă date cu totul aproximative. Existența ritmului circadian, în care rata proliferării maligne crește de la ora 14^{00} spre ora 2^{00}, iar sinteza maximă de ADN este între ora 20—22^{00}, impune administrarea citostaticelor în acest interval. Uneori se poate aprecia și ora activității maxime a drogului, în funcție de faza ciclului celular în care intervine : astfel, citozin-arabinozidul, agent dependent de fază, are acțiune moderată

Scanned with OKEN Scanner

la ora 14^{00} și puternică la ora 23^{00}, perioadă care corespunde sfîrșitului sintezei ADN și începutului fazei G_2.

Așadar, s-a renunțat la schema convențională, de administrare continuă a drogurilor, în favoarea administrării discontinui. Intervalul variază în funcție de durata ciclului celular (timp de dublare rapid sau lent) și de caracterul drogului — dependent de fază sau ciclu. Chimioterapia combinată, realizînd recrutarea și sincronizarea celulelor maligne, este net superioară monochimioterapiei.

3. Caracterul specific al chimioterapiei

Imperativul selectivității chimioterapiei include, alături de discriminarea terapeutică între celulele maligne și normale, aspectul specificității de acțiune a drogurilor în funcție de entitatea nosologică dată. S-a demonstrat astfel că vinblastina și procarbazina sînt specific active în boala Hodgkin, daunorubicina — în leucemia acută promielocitară, VP 16.213 — în leucemia acută monocitară, citozin-arabinozidul în leucemia acută mieloblastică, ciclofosfamida — în tumora Burkitt. Dar, alături de această specificitate reală, există citostatice și scheme terapeutice menținute prin tradiție și care necesită o reevaluare critică : busulfanul, considerat medicația de elecție în LGC, este la fel de activ ca și clorambucilul, în LLC și reciproc ; ciclofosfamida duce la stabilizarea mielomului multiplu, ca și melphalanul, consacrat de tradiție, prezentînd în plus avantajul unei nocivități reduse.

Aprecierea caracterului specific al chimioterapiei este empirică și se estimează *a posteriori*, pe baza experimentului clinic.

4. Locul chimioterapiei în tratamentul leucemiilor acute

Chimioterapia cunoaște două limite : prima, rezultînd din caracterul neselectiv al acesteia, a doua — din regula cineticii de prim ordin, conform căreia orice drog distruge numai o anumită proporție de celule, totdeauna aceeași, indiferent de numărul de celule maligne pentru care se aplică tratamentul, deci prin chimioterapie nu se ajunge la eradicarea întregii populații celulare. În consecință :

a) boala „reziduală", determinată în general de o populație celulară totală sub 10^5, trebuie depășită prin capacitatea proprie a organismului de a recunoaște și îndepărta *non-selful*, dar care este siderată atît datorită procesului malign, cît și tratamentului aplicat. În aceste condiții, imunoterapia se impune ca adjuvantul esențial și logic al chimioterapiei ;

b) asocierea radioterapiei în scop profilactic sau pe leziunile slab influențate prin chimioterapie, completează protocolul chimioterapic, ameliorînd durata și calitatea supraviețuirii ;

Scanned with OKEN Scanner

c) nu se persistă în aplicarea unei scheme terapeutice la care pacientul nu răspunde, indiferent de fermitatea (aparentă) a bazelor teoretice.

În concluzie, progresele în domeniul chimioterapiei leucemiilor acute constau în :

— descoperirea de noi citostatice, unele cu acțiune strict specifică ;
— reconsiderarea ariei de administrare a drogurilor cunoscute ;
— folosirea asocierilor de droguri, în funcție de cinetica celulară a proliferării neoplazice ;
— integrarea chimioterapiei într-un program complex, alături de radio și imunoterapie.

Date generale asupra imunoterapiei

Caracterul limitat al mijloacelor terapeutice actuale, alături de existența unei deficiențe a imunosupravegherii antitumorale în limfoamele maligne și leucemiile acute, justifică introducerea imunoterapiei în tratamentul acestor afecțiuni, în scopul eradicării bolii reziduale.

I. Bazele teoretice ale imunoterapiei limfoamelor maligne (LM) și leucemiilor acute (LA) :

1. existența unei *corelații* între stările de deficit imun și neoplazii în general (2, 3, 11), demonstrată de : a. incidența crescută a LM în cazul deficitelor imune congenitale ; b. apariția cu predilecție a LM în perioada de viață în care eficiența apărării imune este redusă fiziologic (de ex., la copii și vîrstnici) sau secundar tratamentului imunosupresor (de ex., pentru condiționarea transplantului renal) ; c. regresiunea, eventual vindecarea unor neoplasme după întreruperea tratamentului imunosupresor și restaurare imunologică (fenomen observat la pacienții cu transplant renal) ; d. durata redusă de supraviețuire în cazul neoplaziilor evoluînd pe teren cu deficit imun sever și e. rata semnificativ crescută a curabilității tumorilor puternic antigenice ;

2. existența *antigenelor tumorale* (7, 9, 12). A fost demonstrată inițial în 1953 pentru tumorile experimentale chimioinduse, ulterior (1960) pentru tumorile de etiologie virală și leucemii. S-au descris trei tipuri de antigene tumorale : a. antigene apărute în cursul procesului de carcinogeneză *chimică* : sînt puternic exprimate, specifice fiecărui tip de tumoră, carcinogen și individ, suscită reacții imune intense și orientate strict antitumoral, motiv pentru care sînt numite „antigene de transplantare specific tumorale" (TSTA) ; b. -antigene determinate de carcinogeneza *virală*, specifice pentru un anumit grup de virusuri

Scanned with OKEN Scanner

oncogene, indiferent însă de țesutul sau specia animală afectată ; sînt cunoscute sub numele de „antigene tumorale asociate“ (TAA). Experimental, s-a demonstrat etiologia virală a leucemiei aviare, murine, feline, bovine și a carcinomului mamar (virusuri ARN). Virusurile ADN cu acțiune oncogenă aparțin grupului Papova (virusul papilomului Shope, polioma și vacuolizant). În clinică se sugerează eventualitatea etiologiei virale în tumora Burkitt, carcinomul nazofaringian, boala Hodgkin (în cele trei entități fiind incriminat virusul Epstein-Barr), leucemia acută mieloblastică, neoplasmul bronhopulmonar, carcinomul mamar și de col uterin ; c. -antigenele *fetale* ; se întîlnesc deopotrivă în tumorile de origine virală sau chimioinduse, coexistînd cu celelalte două clase de antigene și sînt consecința reexprimării unei gene care în mod normal este activă numai în perioada fetală. S-au decelat următoarele tipuri: Ag. fetale asociate leucemiei și bolii Hodgkin; alfa-1-fetoproteina (în carcinomul hepatocelular, regenerările benigne ale hepatocitului), alfa-2-H-fetoproteina (în procesele rapide de proliferare a hepatocitelor, nefroblastom, neuroblastom, hemopatii maligne), beta-S-fetoproteinele (în neoplazii hepatice și fenomene inflamatorii sistematice), gamma-fetoproteina, Ag. fetal sulfo-proteic, antigenul carcinoembrionar (în neoplasmele de colon și alte tumori, cu localizare extradigestivă) ;

3. existența unor *mecanisme de apărare antitumorală* la nivel celular și umoral, implicînd : a. *participarea macrofagelor și histiocitelor*. Afluxul de macrofage, cu formarea unei „bariere“ peritumorale și infiltrarea intratumorală, aspect histologic care precede respingerea tumorii transplantate și în cazuri excepționale, *al neoplasmelor spontane*, este determinat prin limfokine. Asocierea neutrofiliei locale este cvasiconstantă, ca urmare a eliberării unui factor chimiotactic de către macrofage. Efectul citotoxic al macrofagelor se exercită fie nespecific, provocat de alte proprietăți ale membranei celulei tumorale decît calitățile sale antigenice, fie specific, secundar acțiunii anticorpilor citofili asociați membranei macrofagului sau celulei tumorale. În practica imunoterapiei, activarea macrofagului se realizează în special prin administrare de BCG ; b. *acțiunea limfocitelor T sensibilizate* față de antigenele tumorale. Citoliza tumorală (intensă *in vitro*, dar variabilă *in vivo*) se produce prin efect citotoxic direct al limfocitului T sensibilizat sau ca urmare a cooperării sale cu macrofagul. Fenomenul stă la baza imunoterapiei „adoptive“, metodă grevată însă de riscul reacțiilor imune ale primitorului față de antigenele donorului prezente pe suprafața limfocitelor T sensibilizate ; c. acțiunea citotoxică dependentă de complement a *anticorpilor specifici antitumorali*. Rolul acestora este

controversat. Pericolul asocierii cu „factorii blocanți" și facilitarea tumorală consecutivă, fac să se evite imunoterapia pasivă cu ser sau plasmă de la donori sensibilizați.

Ineficiența imunosupravegherii antitumorale, reflectată de proliferarea clonei neoplazice, este un fenomen complex, determinat de două categorii de factori : a. defectul imun congenital sau indus (discutat anterior) ; b. caracterele antigenice tumorale. Procesul de modulație antigenică în prezența anticorpilor, constînd în mascarea antigenelor prin invaginare membranară, endocitoză tranzitorie sau redistribuirea antigenelor pe suprafața celulei, exprimarea slab antigenică a majorității neoplaziilor maligne, dezvoltarea acestora în sedii „privilegiate" (de ex., SNC) și masa tumorală totală (peste cifra critică de 10^5 celule neoplazice) explică parțial depășirea capacității de apărare specifică a organismului. Elementul esențial care asigură protecția clonei maligne este însă proprietatea blocantă a serului, care constă în inhibarea reacției citotoxice limfocit-celulă tumorală în prezența serului autolog. Fenomenul poate fi explicat atît prin existența *Ac. blocanți* (facilitanți, *enhancing antibodies*) (4), care se fixează pe Ag. tumorale dar nu provoacă liza, probabil datorită modulației antigenice, cît și prin eliberarea de antigene tumorale în circulație, cu formarea de complexe Ag—Ac, care acționează la nivelul limfocitului T. Se pare că în faza inițială, celulele tumorale declanșează apariția Ac. blocanți, dezvoltarea ulterioară a tumorii fiind protejată prin apariția complexelor Ag — Ac. Faptul că unele forme ale răspunsului imun *sînt necesare* creșterii tumorale, a fost demonstrat experimental : la NN, deci în faza de incompetență imunologică, tumorile slab antigenice nu se dezvoltă, cele puternic antigenice au o perioadă de latență mare comparativ cu adultul, iar unele tumori spontane nu apar decît cînd animalul a devenit matur imunologic (13). Concomitent, intervine un mecanism general (neimunologic) de reglare a creșterii celulare, controlînd Ag. fetale, indiferent de originea lor (normală sau malignă).

În aceste condiții, imunoterapia rămîne grevată de riscul facilitării tumorale, fenomen care explică probabil rezultatele contradictorii raportate în literatură.

II. Aspecte practice ale imunoterapiei LM și LA

Există următoarele posibilități de imunoterapie :

a) *pasivă*, constînd în administrarea de ser sau plasmă cu Ac. specifici sau „factori deblocanți". Încercările de inhibare a acțiunii blocante a serului prin plasmafereză și imunoadsorbție sau diminuarea producerii de Ac. prin deprimare specifică a limfocitului B, nu au depășit faza de experiment ;

Scanned with OKEN Scanner

b) *adoptivă*, folosind celule limfoide sensibilizate specific, extracte active ale acestora (factorul de transfer și ARN imun)(*instructional immunotherapy*) sau transplantul de măduvă osoasă ;

c) *activă*, fie *specifică*, administrînd celule tumorale autologe sau alogene, Ag tumorale nemodificate sau modificate termic, chimic, prin iradiere, acțiune virală, enzimatică, hibridare sau cuplare cu gammaglobulină și Concanavalină A, fie *nespecifică*. În acest caz se pot utiliza imunoadjuvanți, care stimulează nespecific reactivitatea imună (BCG, *Corynebacterium parvum*, tuberculină, extracte bacteriene) sau imunomodulatori (timozină, levamisol) în intenția compensării deficitului imun.

Eficiența imunoterapiei depinde de numărul de celule tumorale totale, fiind maximă pentru valori sub 10^5 și de momentul aplicării. Așadar imunoterapia *succede* terapiei convenționale, prin care se tentează reducerea numărului de celule neoplazice. Intervalul optim între sfîrșitul chimioterapiei și aplicarea imunoterapiei este apreciat empiric.

Dintre posibilitățile de imunoterapie enumerate, se utilizează mai frecvent în clinică administrarea de BCG, *Corynebacterium parvum*, levamisol și timozină, uneori în asociere cu celule tumorale autologe neviabile.

1. *Imunoterapia cu BCG* (2, 6, 10). Tulpinile existente în prezent variază considerabil sub aspectul virulenței individuale, capacității de imunopotențare și de activitate antitumorală : cea mai puternică este tulpina Pasteur, cea mai slabă — tulpina Glaxo, celelalte (Phipps, Connaught, Tice) fiind intermediare.

Administrarea de BCG determină creșterea răspunsului imun umoral și celular, sporește fagocitoza prin acțiune directă la nivelul macrofagelor și facilitează eliberarea de interferon. Acțiunea antitumorală a BCG constă în activarea nespecifică a macrofagelor, care recunosc și distrug prin mecanism neimun celulele neoplazice și eventual — în stimularea imună specifică, datorită asemănării sale cu unele antigene tumorale (în special, ale leucemiei acute mieloblastice).

Modul de administrare variază în funcție de tipul neoplasmului, dar se preferă inj. i.v. sau aplicarea prin scarificare. Calea intradermică dă rezultate nesatisfăcătoare. Injectarea intralezională se aplică în melanoamele maligne, determinînd dispariția tumorilor cutanate în 65—90% din cazuri (2, 10). În LAL și LAM, imunoterapia cu BCG prin scarificare (pag. 197, 213) crește semnificativ durata primei remisiuni complete, scade pericolul infecțiilor, facilitează reinducția prin chimioterapie în cazul recăderii și ieșirea din aplazia medulară postchimioterapică. Alte studii au ajuns însă la rezultate contradictorii. În *limfoamele maligne*, asocierea imunoterapiei cu BCG, preferabil

Scanned with OKEN Scanner

prin scarificare, determină ameliorarea duratei și a calității supraviețuirii.

Efectele secundare ale imunoterapiei cu BCG constau în reacții locale (eritem, prurit, induratie, crustă) și generale (subfebrilități, mialgii, frisoane, disfuncție hepatică, septicemie cu bacili Calmette-Guérin). S-a observat experimental posibilitatea facilitării tumorale, care, deși nu s-a întîlnit în clinică, rămîne un pericol potențial.

2. *Imunoterapia cu Corynebacterium parvum* prezintă următoarele avantaje : este standardizată, se efectuează cu germeni omorîți, deci nu determină complicații infecțioase, este bine tolerată. Administrarea săptămînală a 4 mg *C. parvum* în 2 ml. Xilină s.c., concomitent cu chimioterapia, a determinat prelungirea cu 3—12 luni a duratei de supraviețuire față de grupul control, la pacienții cu neoplazii generalizate (5).

3. *Imunoterapia cu levamisol.* Este singura metodă care nu stimulează mecanismele de apărare imună peste valorile normale la subiecții sănătoși. Levamisolul și derivatul său, tetramisolul, par să restaureze imunitatea celulară la pacienții cu neoplazii, în special în stadiile tardive ale bolii (proprietăți „antianergice"). Se administrează doze de 2,5 mg/Kgc/zi per os, 2—3 zile consecutiv, săptămînal sau la două săptămîni, în medie 6 săptămîni, prevenind metastazele hematogene. În tratamentul LAM, levamisolul, administrat după același protocol, dar asociat cu chimioterapie intermitentă 5 zile la 4 săptămîni, a determinat creșterea duratei de supraviețuire de la 10 luni la 16 luni (1). Diferența nu este însă semnificativă statistic, datorită poate și numărului mic de cazuri. Efectul secundar de importanță vitală este agranulocitoza.

4. *Imunoterapia cu timozină* (8). Fracțiunea 5 a extractului de timus bovin, administrată s.c., în doze de 10—250 mg/m²/zi timp de 5—14 zile, ulterior o doză săptămînal, determină restaurarea imunității celulare, uneori însoțită de regresiunea tumorii. Metoda se află încă în fază de experiment clinic.

III. Terapia cu interferon

Deși datele teoretice indică utilizarea interferonului drept *adjuvantul terapeutic esențial* într-o gamă largă de afecțiuni benigne și maligne, metoda nu a intrat încă în practică, datorită dificultăților tehnice de obținere și purificare. Studiile clinice utilizează ca furnizori de interferon uman Banca Națională de Sînge (Helsinki) și recent, Institutul Național de Alergologie și Boli Infecțioase (SUA). Interferonul este o proteină cu acțiune anti-virală, elaborată de celulele infectate cu virus, care prezintă numai specificitate de *specie*, nu și de

Scanned with OKEN Scanner

virus sau grup viral. Nu acționează direct asupra virusului, ci *mărește rezistența gazdei* față de acesta, via sistem imun. În tumorile experimentale de etiologie virală, inhibă sinteza ADN și creșterea celulelor tumorale. Producția de interferon este facilitată de administrarea de antimetaboliți, antibiotice, endotoxine bacteriene.

Există trei tipuri de interferon uman : *F* (tip *fibroblastic*, produs de majoritatea celulelor organismului uman), *Le* (leucocitar) — cel mai frecvent utilizat în scop terapeutic și interferonul *leucocitar tip 2*, aflat în curs de experiment.

Administrarea profilactică de interferon la animalele de laborator care dezvoltă leucemii virale (șoarecele AKR) a întîrziat semnificativ dezvoltarea bolii, crescînd durata de supraviețuire. Utilizarea interferonului în clinica umană a permis rezecții limitate în sarcomul osteogenic, reducînd necesitatea amputației (Hans Strander) și ameliorarea prognosticului, în limfoamele maligne nehodgkiniene (Th. Merigan) (2).

În concluzie, imunoterapia constituie, cel puțin teoretic, elementul esențial în prelungirea duratei de supraviețuire după obținerea remisiunii complete prin chimioterapie convențională, dar multiplele necunoscute ale procesului de apărare antitumorală o pot transforma într-un factor facilitant al proliferării neoplazice. Utilizarea de interferon deschide noi perspective în profilaxia și terapia bolilor maligne.

BIBLIOGRAFIE

1. *Amery W. K.* World J. Surg., 1977, *1*, 5, 597.
2. *Borsos T., Rapp H. J.* (edit.) *Conference on the Use of BCG in Therapy of Cancer.* Natl. Cancer Inst. Monogr., 1973, DHEW Publ. No (NIH) 74—511.

2b. *Friedman R. M.* CA, 1978, *28*, 5, 278—283.

3. *Havemann K.* Internist, 1975, *16*, 10, 471.
4. *Hellström I., Warner G. A., Sjören H. O., Hellström K. E.* Int. J. Cancer, 1971, *7*, 226.
5. *Israel L., Edelstein R.* World J. Surg. 1977, *1*, 5, 585.
6. *Kardaszewicz E., Japa J.* Hyg., Epid., Microb., Immunol. 1976, *20*, 1, 20.
7. *Oettgen H. F.* Internist, 1975, *16*, 4, 199.
8. *Rossio L. J., Goldstein A. L.* World J. Surg., 1977, *1*, 5, 605.
9. *Santos W. G., Anderson P. N., Klein D. L. et al.* Am. Clin. Climatol. Ass., 1967, *88*, 95.
10. *Schwarz M. A., et al.* World J. Surg., 1977, *1*, 5, 555.
11. *Simu G. Imunitate și Cancer.* E. M. București, 1978, 72, 80 et pass.
12. *Zintl F. et al.* Zschr. inn. Med., 1976, *31*, 227.
13. *Zinzar S. N. et al.* J. Natl. Cancer Inst., 1976, *57*, 1, 47.

Scanned with OKEN Scanner

Tratamentul leucemiei acute limfoblastice

Se instituie de urgență, datorită multiplicării rapide a populației celulare patologice (timpul de dublare fiind în medie 4 zile) și riscului de deces subit prin hemoragie cerebrală masivă, cînd leucocitoza depășește 100 000/mmc.

A. Elemente de prognostic preterapeutic

Alegerea protocolului terapeutic depinde de factorii de prognostic, reprezentați de tipul citologic, imunologic și citochimic al clonei blastice, de vîrsta, sexul și rasa pacientului și numărul de leucocite din sîngele periferic în momentul diagnosticului.

Deși literatura recunoaște în unanimitate heterogenitatea clinică și biologică a leucemiei acute limfoblastice (LAL), criteriul optim de clasificare în subgrupe este încă subiect de controversă. Criteriul citologic permite, după Mathé (26), descrierea a cinci tipuri citologice în cadrul LAL :

1. forma *prolimfoblastică* : se întîlnește în 18% din cazurile de LAL și reprezintă proliferarea celulelor patologice cu o structură mai puțin diferențiată decît a limfoblastului normal ; prognosticul este sever, obținîndu-se sub tratament remisiune completă numai la 43% din cazuri ;

2. forma *macrolimfoblastică* : reprezintă 23% din totalul LAL ; celulele patologice au diametrul peste 11 microni, sînt asemănătoare limfoblastului normal ; se poate obține remisiunea completă după tratament, în 87% din cazuri ;

3. forma *microlimfoblastică* : se constată în 21% din cazuri ; diam. celular este sub 11 microni, prognosticul este favorabil, iar remisiunea completă se poate obține în 100% din cazurile tratate ;

4. forma *prolimfocitară* : este cel mai frecvent întîlnită (38% din cazurile de LAL) ; clona patologică are aspect intermediar între limfoblast și limfocit ; prognosticul este de asemenea favorabil, raportîndu-se remisiunea completă la 96—100% din cazurile tratate ;

5. recent s-a descris forma *imunoblastică*, în care proliferează celule patologice cu diametrul 15—25 microni, citoplasmă albastru-intens, uneori vacuolizată, nucleul rotund, situat central, cromatina fină și 1—2 nucleoli, deci aspect similar imunoblastului. Forma imunoblastică este rar întîlnită. Mathé, care a individualizat-o sub această denumire, a descris în 1974 două cazuri, unul cu aspect de LAL cu imunoblaști *d'emblée*, celălalt reprezentînd leucemizarea unui imunoblastosarcom. În 1975, Schwarze și Ude descriu un sarcom imunoblastic leucemizat dezvoltat în stadiile tardive ale Mycozisului fungoid ;

Scanned with OKEN Scanner

în același an, Advani remarcă identitatea clinică și morfologică între LA cu imunoblaști și forma de LAL cu celule „Burkitt-like" (2). Pînă la sfîrșitul anului 1977 sînt descrise în literatură 10 cazuri de LA cu imunoblaști : Acar (1), făcînd revista literaturii, menționează 8 cazuri la care adaugă unul personal, iar Advani (3) publică în septembrie 1977 încă 1 caz. Prognosticul formei imunoblastice este sever. Au fost obținute sporadic remisiuni complete sub tratament cu VP 16.213 (Vépéside — Sandoz).

Fără să fie inclusă în clasificarea citologică menționată, leucemia acută cu celule „în oglindă cu mîner" (*hand-mirror cell leukemia*) reprezintă o nouă entitate clinică și morfologică în cadrul LAL. Cazul princeps, descris în 1977 de Schumacher (37) suscită interes prin aspectul citologic particular al populației limfocitare în măduvă și prin supraviețuirea îndelungată în absența terapiei.

Școala anglo-saxonă optează pentru criteriul imunologic și citochimic în aprecierea heterogenității LAL, declinînd existența diferențierii citologice (11, 33).

În funcție de markerii de suprafață ai celulelor blastice patologice, se descriu 3 subgrupe în cadrul LAL (tabel nr. XXIII) :

TABELUL XXIII

Clasificarea LAL în funcție de markerii imunologici ai celulelor blastice (11)

Tipul LAL	Reacția cu ser anti-LAL	SRBC	Anti-Ig
Comun	+	−	−
celule T	−	+	−
celule B	−	−	+
celule nule	−	−	−

1. *LAL cu celule T* (*sau Thy*) reprezintă aproximativ 26% din totalul cazurilor de LAL. Se caracterizează prin prevalența la vîrsta adultă și la sexul masculin ; evoluția este marcată de sindromul adenospleno-hepatomegalic, cu mase tumorale mediastinale, mai rar abdominale, frecventa implicare meningiană și afectare cutanată. Numărul de GA în momentul diagnosticului este în general peste 100 000/mmc. Morfologic, celulele leucemice sînt polimorfe, cu nuclei ancoșați sau polilobați. Uneori se remarcă izbucnirea „în focare" a acestui tip de leucemie, la locul de naștere al pacienților (38,44). LAL cu celule T este forma cu cel mai sever prognostic : deși se poate obține remisiunea completă, recăderea apare curînd și este ireversibilă (5, 14, 34, 35, 43).

Scanned with OKEN Scanner

2. *LAL cu celule B*. Este o eventualitate rară : în 1974, Gajl-Peczalska și col. descriu un caz la 35 LAL (17) ; în 1975, Kersey și col. nu întîlnesc nici un caz din 32 studiate (20) ; în 1976, Brout și col. raportează 3 din 100 de leucemii acute limfoblastice (9), iar Bel și col., în 1977, apreciază frecvența LAL cu celule B la aprox. 4% (6). În această categorie se încadrează și cazurile de LA cu imunoblaști. Prognosticul este sever : singurul citostatic activ este VP 16. 213.

3. *LAL cu celule nemarcate* („non-B, non-T") reprezintă 70% din cazurile de leucemie acută limfoblastică. În cadrul acestei forme, unii autori (11), disting două categorii : a. *tipul comun*, la care celulele blastice reacționează cu ser specific anti-LAL și b. *tipul „null"* la care reacția cu ser specific anti-LAL este negativă. Deși majoritatea autorilor înglobează sub denumirea de „null-cell leukemia" ambele categorii de leucemii cu celule nemarcate, diferențierea este justificată totuși de evoluția particulară a fiecărei forme : la tipul comun, prognosticul este favorabil : numărul de GA în momentul diagnosticului este sub 20 000/mmc ; sub tratament se obține remisiune completă în peste 90% din cazuri, într-un interval sub 8 săptămîni. Tipul „null" este heterogen : în cadrul acestuia, o parte din pacienți prezintă tabloul clinic și prognosticul grav al LAL cu celule T, de unde ipoteza că proliferarea patologică este constituită de celule T imature, în timp ce restul cazurilor prezintă prognosticul favorabil al tipului comun. *Leucemia cu celule tulpină* se încadrează de asemenea în categoria LAL cu celule nemarcate și prognostic favorabil : atît în cazurile PAS pozitive (aprox. 11% din totalul LA cu celule tulpină) cît și în cazurile PAS negative, se poate obține remisiunea completă sub tratament polichimioterapic într-un procent de 54% (42).

O explicație posibilă a răspunsului terapeutic diferențiat în funcție de markerii imunologici o constituie numărul crescut de receptori membranari pentru glucocorticoizi pe unele celule nemarcate în comparație cu limfoblaștii T. Constatarea este remarcabilă dacă se are în vedere că principalul agent terapeutic de care dispunem în prezent în LAL este prednisonul (alături de VCR și L-asparaginază) (22).

Criteriul biochimic de apreciere a heterogenității LAL prezintă interes sub 2 aspecte : a) corelat cu clasificarea imună, aduce un plus de certitudine diferențierii celulare B—T (tabel XXIV) ; și b) evidențiază valoarea prognostică a complexelor imune circulante : remisiunea completă se obține la 75,4% din pacienții care nu prezintă complexe imune circulante în momentul diagnosticului și numai la 32,7% la cazurile pozitive (40 ; 10 bis). Fenomenul poate fi interpretat în corelație cu afirmația lui Astaldi (40), care arată că prognosticul în LAL este favorabil atunci cînd în periferie există un procent sub 10% de

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL XXIV

Diferențierea citochimică a proliferării blastice în LAL (40)

Tipul celular	nse	ACP	MgP	gl	PAS
Celule T	+[1]	++[2]	−→++[3]	++	−→++[4]
Celule B	−	−[2]	−→++++	−	−→++[5]

[1] = pozitivă în focare, posibil specifică pentru celulele T.
[2] = pozitivă în focare, posibil specifică pentru celulele T, în special în LAL cu celule T și în limfomul limfoblastic T.
[3] = în general pozitivă în celulele în curs de diviziune (imunoblaști) și intens pozitivă în celule secretoare de proteine (de ex., imunoblaștii B).
[4] = dintre celulele T, celulele Sézary prezintă aspect particular: reacția PAS „în șirag de mărgele".
[5] = celulele B sînt negative, dar plasmocitele, pozitive.
Abrevieri:
nse = esteraza nespecifică; *ACP* = fosfataza acidă; *MgP* = verde de metil-pironină; *gl* = beta-glicuronidaza.

celule cu Ig adsorbite pe suprafață. Atît complexele imune, cît și IgS ar reprezenta Ac. facilitanți.

Sinteza acestor clasificări cu valoare clinică și prognostică este realizată în 1977 de Belpomme, care, într-un studiu pe 50 de cazuri de leucemie acută limfoblastică afirmă că subgrupul LAL cu celule T aparține morfologic tipului prolimfocitar sau macrolimfoblastic, în timp ce subgrupei cu celule nemarcate îi corespunde tipul prolimfoblastic și microlimfoblastic (6). Echivalența descrisă se verifică din punct de vedere al frecvenței, formei clinice și prognosticului: evoluția cea ma gravă se constată în LAL cu celule T, tipul macrolimfoblastic și LAL cu celule nemarcate, tipul prolimfoblastic, considerate celule T imature.

Alături de tipul citologic și imunologic al LAL, se apreciază ca elemente cu importanță prognostică: a. vîrsta: evoluția este favorabilă între 2—10 ani și rapid letală sub 2 ani și peste 50 de ani; b. sexul: Hann și col. (18) atrag atenția asupra răspunsului prompt la tratament în LAL cu celule T la sexul feminin, unde obține remisiune completă cu durata peste 33 de luni; c. rasa: în condiții patologice identice, populația de culoare are o durată de supraviețuire redusă față de albi; d. nr. de GA din sîngele periferic în momentul diagnosticului: leucocitoza peste 20 000/mmc implică un prognostic sever (10).

Scanned with OKEN Scanner

B. Principii și scheme terapeutice în LAL

Metodele clasice de tratament, radioterapia și chimioterapia, au fost suplimentate de imunoterapie în scopul prelungirii duratei remisiunii complete și de aplicarea transplantului de măduvă hematopoietică pentru inducerea remisiunii în cazurile refractare. Studiile clinice și experimentale se orientează în prezent spre optimizarea schemelor terapeutice și testarea eficienței citostaticelor nou sintetizate, în LAL.

Inducția și menținerea remisiunii complete se face în principal prin chimioterapie, asociată în leucocitozele peste 100 000/mmc cu iradiere craniană inițială, eventual iradiere decompresivă pe mediastin. Citostaticele folosite pentru *inducția remisiunii* în LAL sînt prednisonul (PDN), vincristina (VCR), L-asparaginaza (ASP). Asocierea Daunorubicinei sau Adriamicinei la drogurile menționate poate determina inducția remisiunii complete și atunci cînd populația blastică este rezistentă *d'emblée* (de ex.: în forma macrolimfoblastică, prolimfoblastică și în LA cu celule tulpină) sau *a devenit* rezistentă în cursul tratamentului cu primele trei citostatice (28). Citostaticele *„de menținere"* a remisiunii sînt metotrexatul (MTX), 6-mercapto-purina (6MP) și ciclofosfamida (CPM). Un nou alcaloid de Vinca Rosea, numit Vindésine, izolat recent și aflat în faza experimentului clinic, s-a dovedit deosebit de activ în LAL, fără să prezinte rezistență încrucișată cu VCR sau VBL. În fază de experiment clinic se află și Neocarzinostatinul (19), chimioterapic care, administrat singur la 18 pacienți cu LAL a determinat un număr de 7 remisiuni complete și 4 remisiuni parțiale, iar inclus în combinația clasică (VCR, Ara-C, 6MP și/sau PDN), a determinat remisiune completă la 15 din 18 cazuri de LAL cu prognostic preterapeutic sever. În fază de experiment preclinic se află o serie de compuși dintre care se remarcă: malonat (1, 2-diamino-ciclohexan) platinum II, care asociat cu radioterapia, a determinat creșterea semnificativă a duratei de supraviețuire în leucemia murină L 1 210 în funcție de doza administrată (10—20 mg/Kgc) (32) și karminomicina, cu proprietăți asemănătoare rubidomicinei, dar cu activitate antileucemică mai intensă și toxicitate redusă (23).

În privința utilizării adecvate a citostaticelor disponibile, tendința actuală este de *simplificare* a protocolului terapeutic, atît în perioada de inducție, cît și de menținere a remisiunii (4). Amiel recomandă în formele cu prognostic favorabil PDN și VCR pentru inducția remisiunii, în timp ce schemele complexe sînt rezervate cazurilor considerate inițial sau secundar recăderilor succesive, ca refractare. S-a remarcat recent că menținerea remisiunii complete prin chimioterapie *continuă* (MTX, 6MP) determină apariția unor clone patologice rezistente la drogurile respective, astfel încît durata remisiunilor ulterioare este semnificativ redusă (12 săptămîni față de 38 de săptămîni în studiul lui Lane și col.—24). Întreruperea tratamentului de menținere la

Scanned with OKEN Scanner

2—6 luni după obținerea remisiunii complete împiedică instalarea rezistenței la citostatice, avînd ca rezultat creșterea duratei de supraviețuire, deși scade durata primei remisiuni complete (de menționat însă că autorii nu au aplicat imunoterapie).

Adjuvantul esențial al chimioterapiei în prelungirea duratei remisiunii complete și implicit a supraviețuirii, este imunoterapia. În 1977 au fost publicate rezultatele primului studiu—pilot asupra imunoterapiei active în LAL, început în 1962 (27). Din cei 20 de pacienți cu LAL supuși imunoterapiei active, un număr de 8 sînt în viață la 10—13 ani după obținerea remisiunii complete, dintre care 7 se află încă în cursul *primei* remisiuni complete. Toți cei 10 pacienți la care nu s-a aplicat imunoterapia au decedat. Mathé și col. apreciază că persistența platoului curbei de supraviețuire pe o durată de 3—4 ani indică în realitate „speranța de vindecare". Rezultatele favorabile au fost confirmate și de alte grupuri de studiu : Kislyak și col. menționează că durata medie a remisiunii complete și supraviețuirii la copiii cu LA supuși imunoterapiei cu BCG a fost de 25,2 luni și respectiv 32,3 luni, în timp ce la lotul control, durata remisiunii complete și supraviețuirii a fost de 13,2 luni și 21,8 luni (21).

Diferențele observate între duratele de supraviețuire pe loturi comparabile se explică prin capacitatea imună diferită a organismelor înainte de imunoterapie, pentru testarea căreia metodele actuale sînt încă insuficiente și prin tehnica de imunoterapie folosită. În 1978, Ezaki și col. (15) atrag atenția asupra corelației existente între durata remisiunii complete și intensitatea răspunsului blastogenic *in vitro* la agenții utilizați pentru imunoterapie. Administrarea de antigene asociate leucemiei (LAA) crește răspunsul blastogenic de 5 ori atît față de LAA, cît și față de celulele autologe iradiate, pe toată durata celor 29 de zile ale experimentului, cu prelungirea semnificativă a duratei de supraviețuire, în timp ce imunizarea cu celule autologe iradiate, deși determină inițial creșterea răspunsului față de LAA, scăderea apare rapid și este ireversibilă pe durata experimentului. Rezultatele superioare ale imunoterapiei cu LAA necesită însă confirmare ulterioară.

O metodă de excepție, aplicată în cazurile rezistente la chimioterapie, este transplantul de măduvă osoasă autologă sau de la un donor identic. Grupul UCLA (44 bis) raportează remisiune completă pe o durată de la 36 de zile la peste 2 ani și jumătate la toți cei 33 de pacienți care au primit transplant, în timp ce numai 6 din cei 37 de pacienți la care s-a aplicat terapia citostatică convențională au răspuns prin remisiune completă. Deși în ambele grupuri supraviețuirea a fost nesatisfăcătoare, un număr de 5 pacienți cu transplant (= 15%) sînt în viață la 1—2½ ani de la obținerea remisiunii complete, în timp ce toți pacienții din al II-lea lot au decedat într-un interval de 13 luni.

Într-un studiu pe 100 de bolnavi (46 cu LAL, 54 cu LAM) la care s-a practicat transplant de măduvă hematopoietică, Thomas și col. (41) raportează un număr de 17 cazuri care supraviețuiesc la 1—4 ani și jumătate de la obținerea remisiunii complete. S-au constatat un nr. de 31 de recăderi, dar nu s-a remarcat existența unei corelații cu apariția reacției de grefă —contra — gazdă. Alte studii (7, 13, 16) prezintă de asemenea rezultate favorabile, cu durată de supraviețuire peste 6 ani în remisiune completă, dar dificultățile tehnice și rata crescută a mortalității în primele 10 zile datorită terapiei citoreductoare fac ca transplantul de măduvă hematopoietică să rămînă o metodă de rezervă pentru cazurile considerate în afara celorlalte posibilități terapeutice actuale.

Pentru tratamentul LAL dispunem în prezent de numeroase scheme, asociind într-un program complex chimioterapia, radio- și imunoterapia.

Criteriul esențial în opțiunea terapeutică de urgență este numărul de leucocite din sîngele periferic. Prezența unei leucocitoze peste 100 000/mmc implică riscul decesului subit prin hemoragie cerebrală masivă. Aceasta se explică atît prin creșterea vîscozității sanghine datorită masei globulare circulante sporite și rigidității celulelor blastice comparativ cu celulele normale, cît și infiltrației leucemice perivasculare cu alterarea consecutivă a peretelui vascular. Trombocitopenia este moderată în aceste cazuri și nu intervine direct în declanșarea hemoragiilor cerebrale masive. Singurul mijloc terapeutic care, influențînd infiltrația leucemică cerebrală, îndepărtează riscul decesului subit și permite ulterior obținerea remisiunii complete prin protocol chimioterapic, este *radioterapia*. În consecință, indiferent de tipul combinației de droguri care va fi utilizat și momentul iradierii profilactice a SNC stabilit în protocol, *radioterapia craniană se impune cu maximum de urgență*, chiar din ziua stabilirii diagnosticului, concomitent cu chimioterapia de inducție, ori de cîte ori nr. leucocitelor din sîngele periferic depășește 100 000/mmc. S-a preconizat aplicarea craniană a unei doze unice de 400—600 r (45) sau, după alți autori (12), 2 200 r (200 r/zi, Co^{60}, DFP = 80 cm, 2 cîmpuri laterale opuse). În ambele scheme nu s-a constatat nici un deces, iar remisiunea completă s-a obținut ulterior prin chimioterapie. *Iradierea în doză unică inițială este de preferat*, întrucît nu interferează cu radioterapia profilactică inclusă în protocol după obținerea remisiunii complete și nu suplimentează citopenia indusă chimioterapic.

Pentru importanța vitală a iradierii craniene inițiale în leucocitozele peste 100 000/mmc este semnificativ faptul că, din cei 9 pacienți urmăriți de Dearth și col. (1) pe o perioadă de 39 de luni, au decedat prin hemoragie cerebrală masivă în 1—6 zile de la diagnostic, 5 din

Scanned with OKEN Scanner

cei 6 bolnavi neiradiaţi (al 6-lea deces fiind prin stop cardiac secundar compresiunii mediastinale). La cele 3 cazuri de LAL supuse radioterapiei craniene iniţiale, concomitent cu chimioterapia de inducţie, s-a obţinut remisiunea completă.

În continuare, opţiunea terapeutică se face în funcţie de factorii de prognostic.

I. *SCHEMA BINARĂ.* Se aplică în formele cu prognostic iniţial favorabil şi comportă 3 faze : de inducţie a remisiunii complete, de întreţinere şi de reinducţie (*Scavino şi col.* (1976) (36) (tabel nr. XXV) :

a) *Inducţia remisiunii complete.* Se administrează : VCR 1,4 mg/m² i.v. o dată pe săptămînă şi PDN 40 mg/m²/zi per os. După obţinerea remisiunii complete, VCR se întrerupe, iar PDN se scade şi se întrerupe în decurs de cîteva zile.

TABELUL XXV

Varianta Scavino (36)

Inducţia remisiunii PDN 40 mg/m²/zi... VCR 1,4 mg/m² i.v. o dată pe săptămînă	
ambele, pînă la obţinerea remisiunii complete	
	Tratament de întreţinere 6—MP 50 mg/m²/zi per os CPM 200 mg/m² o dată pe săpt., per os Iradierea SNC: 2.400 r/12 doze/3 săpt. MTX i.r. 10 mg/m², × 2/săpt. (×5 doze)
La fiecare 12 săptămîni: *tratament de reinducţie*: PDN 40 mg/zi × 15 zile VCR 1,4 mg/m² i.v. numai în ziua 1, 8, 15.	
	Se continuă tratamentul de întreţinere.

b) *Tratamentul de întreținere.* Se administrează 6-MP (Purinéthol) 50 mg/m²/zi și ciclofosfamidă (CPM) 200 mg/m² per os o dată pe săptămînă, concomitent cu iradierea profilactică a SNC în două cîmpuri craniene laterale opuse, totalizînd 2 400 r/12 doze repartizate în 3 săptămîni. Se asociază în același interval, administrarea intrarahidiană de MTX 10 mg/m² de 2 ori pe săptămînă (în total 5 administrări, deci 50 mg/m² doză totală). După sfîrșitul iradierii se sistează administrarea intrarahidiană de MTX, dar, la tratamentul cu 6-MP și CPM continuat în dozele și ritmul menționat mai sus, se adaugă și MTX *per os* în doză de 20 mg/m²/săptămînă.

c) *Tratamentul de reinducție.* La fiecare 12 săptămîni de la obținerea remisiunii complete se face o nouă puncție sternală pentru evaluare hematologică și dacă persistă remisiunea completă, se procedează la cura de reinducție, administrîndu-se VCR 1,4 mg/m² i.v. în ziua 1, 8, 15 și PDN 40 mg/zi timp de 15 zile. Dacă însă se constată recădere, se aplică scheme terapeutice comportînd Adriamicină, Cytosar etc., cu rezultat bun în 1 din 8 cazuri.

Schema binară în forma menționată determină remisiune completă în 95—100% din cazuri deci rezultatele sînt apropiate de ale combinațiilor citostatice mielotoxice, fără a prezenta însă și riscul acestora.

În 1977, *Amiel* (4), reevaluînd critic schemele terapeutice din literatură, propune următorul protocol, fără chimioterapia de reinducție pe care o consideră inutilă și primejdioasă, suplimentînd însă chimioterapia de întreținere cu imunoterapie activă : (tabel XXVI)

TABELUL XXVI

Varianta Amiel (4)

Inducția remisiunii
PDN 40 mg/m²/zi VCR 1,5 mg/m² o dată/săpt.
ambele, timp de o lună
Tratament de întreținere
6—MP 25—50 mg/m²/zi per os MTX 10—15 mg/m² o dată/săpt., parenteral Iradierea SNC = 2.400 r/18 zile MTX i.r. 5 mg/m² × 2/săpt., timp de 3 săpt.
2 ani chimioterapie de întreținere, apoi :
IMUNOTERAPIE

Scanned with OKEN Scanner

a) *Inducţia remisiunii complete.* Se administrează VCR 1,5 mg/m² i.v. o dată pe săptămînă, şi PDN 40 mg/m²/zi timp de o lună.

b) *Tratamentul de întreţinere* constă în administrarea de 6-MP 25—50 mg/m²/zi per os şi MTX 10—15 mg/m² o dată pe săptămînă, parenteral. Dozele se adaptează în funcţie de valorile leucogramei (tabel XXVII). Concomitent se face profilaxie neuro-meningee prin iradierea encefalului pînă la C_2 în doză de 2 400 r în 18 zile ; în acest interval se administrează intrarahidian 6 doze de MTX a 5 mg/m², două administrări pe săptămînă, preparat însă fără stabilizatori (doza totală de MTX intrarahidian = 30 mg/m²). După doi ani de chimioterapie de întreţinere, autorul aplică *imunoterapie activă.* Se administrează 2 fiole BCG (150 mg bacili greutate uscată) o dată pe săptămînă, pe o suprafaţă de 5 cm², cu 10 sau 5 scarificaţii în funcţie de intensitatea reacţiei, alternativ pe braţe şi coapse. Durata imunoterapiei este între 3—5 ani. Cu acest protocol, autorul a obţinut la 57 din 168 pacienţi cu LAL remisiuni complete cu o durată peste 36 de luni, un caz aflîndu-se în remisiune completă continuă de 11 ani.

TABELUL XXVII

Adaptarea dozelor de citostatice în funcţie de valorile leucogramei (4)

GA/mmc	Doze mg/m²	
	6 MP	MTX
500—1 000	0	0
1 000—1 500	0	7,5
1 500—2 000	25	10
2 000—2 500	25	10
> 2 500	50	15

II. SCHEMELE COMPLEXE (TERNARE ŞI CUATERNARE) asociază principalele droguri active în LAL, fiind grevate însă de riscul aplaziei medulare. Aplicarea acestora este rezervată formelor citologice cu prognostic iniţial sever sau cazurilor în recădere după schema binară.

Pentru inducţie, *Mathé* (28) recomandă asocierea VCR + PDN+ L-asparaginază, suplimentată, în funcţie de gravitatea prognosticului, cu Adriamicină şi Cytosar (tabel XXVIII). Se efectuează de asemenea profilaxia infiltraţiei leucemice a SNC şi imunoterapie. Imunoterapia se începe la 2—3 săptămîni după chimioterapie şi constă în adminis-

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL XXVIII (A)

I. Schema 12-alfa (Mathé) (28)

VCR 1,5 mg/m²/săpt. PDN 40 mg/m²/zi ASP 10 000 U/m² de 2 ori pe săpt.	6—MP 50 mg/m²/zi MTX 5—10 mg/m² de 2 ori/săpt. MTX 10 mg/m² 8 inj. i. rahid. RX. craniu 2 400 r	6—MP 50 mg/m²/zi MTX 20 mg/m²/săpt.	3 cicluri de: VCR (1mg/m²: ziua 1;MTX 15 mg/m² ziua nr. 2 și 3, separate de de intervale de 12 zile.	10 zile de pauză terap.
← 1 lună →	← 1 lună →	← 15 luni →	← 1 lună →	← 10 zile →

IMUNOTERAPIE

TABELUL XXVIII (B)

II. Schema 12—beta (Mathé) (28)

1 lună	1 săpt. pauză	1 lună	21 luni	1 lună	10 z. repaos terap.
VCR 1,5 mg/m²/săpt. PDN 40 mg/m²/zi ASP 10 000 U/m² de 2 ori/săpt. Un ciclu de 4 zile cu ADM z. 1 : 30 mg/m² VCR z. 2 : 1 mg/m² Cytosar ziua 3 și 4 : 100 mg/m²/zi		6—MP 50 mg/m²/zi MTX 5—10 mg/m² de 2 ori/săpt. MTX 10 mg/m² 8 inj. i. rahid. RX. craniu 2 400 r	6 MP 50 mg/m²/zi MTX 20 mg/m²/săpt.	3 cicluri de: VCR 1 mg/m²/zi MTX 15 mg/m²/ ziua nr. 2 și 3, separate prin intervale de 12 zile.	

IMUNOTERAPIE

Abrevieri pentru schema 12—alfa și beta.
VCR = Vincristin i.v.
PDN = Prednison per os
ADM = Adriamicină i.v.
6—MP = Purinéthol per os
MTX = Metotrexat — i.m. și i. rahid.
Cytosar : se adm. în perfuzie de 24 h.

Scanned with OKEN Scanner

trarea de BCG prin scarificare în doză de 10 mg masă bacilară proaspătă pe o suprafață de 10 × 10 cm în ritm de 2 administrări pe săptămînă timp de 1 lună, continuînd apoi cu o administrare pe săptămînă, eventual asociată cu vaccinare i.m. cu *Corynebacterium parvum* sau *granulosum* în doză de 2 ml/m². Se administrează concomitent celule blastice recoltate de la pacienți în momentul internării și păstrate în azot lichid, sau celule alogene iradiate cu 4 000 r. Se administrează intradermic un număr de 4×10^7 celule în 0,1—0,2 ml ser fiziologic o dată pe săptămînă timp de 10 săptămîni. Se continuă cu o administrare la două săptămîni timp de 6 săptămîni, ulterior o dată pe lună. Administrarea celulelor blastice se face între locul de aplicare a BCG și ganglionii limfatici de dren. Cu acest protocol, supraviețuirea maximă la 5 ani este de 75% în condițiile unei reanimări hematologice adecvate.

Spiers și col. (*39*) aplică, în aceleași condiții de prognostic inițial sever, schema de chimioterapie ciclică cuaternară, obținînd remisiune completă în 98% din cazuri, cu o durată a primei remisiuni peste 39 de luni. Tratamentul cuprinde :

a) *Inducția remisiunii complete.* Durează 15 zile și constă în administrarea de : VCR în doză de 1 mg pentru copii și 2 mg pentru adulți, o dată pe zi, în ziua 1, 8, 15 și PDN în doză de 50 mg/zi pentru copii și 100 mg/zi pentru adulți, zilnic, pe durata primelor 15 zile, după care se sistează brusc ambele droguri. Urmează o săptămînă pauză terapeutică.

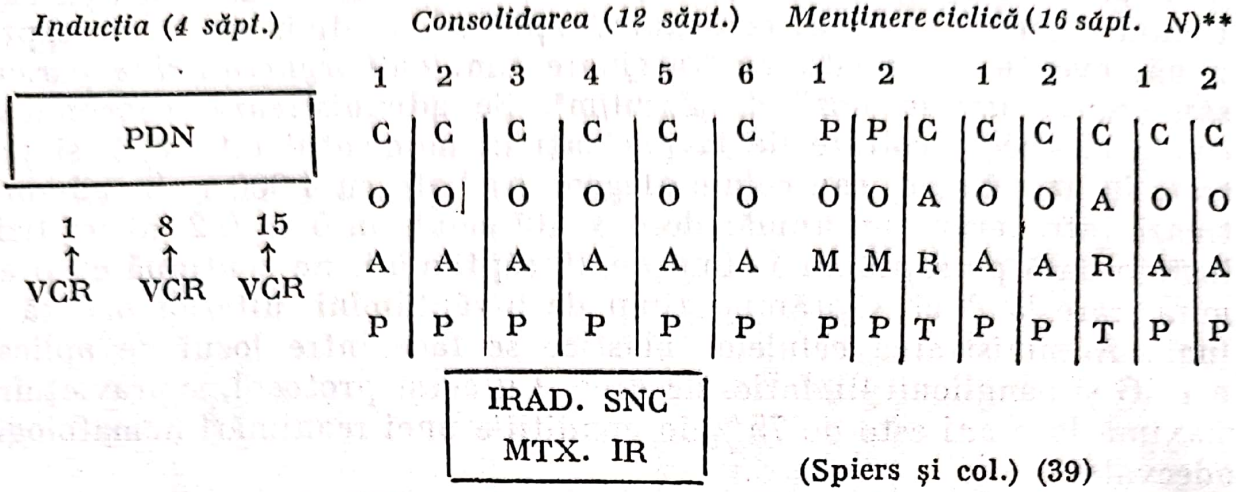
b) *Consolidarea remisiunii complete* : durează 12 săptămîni și cuprinde 6 cicluri chimioterapice de cîte 5 zile fiecare, separate de pauze cu durata de 9 zile. Dacă citopenia persistă, pauza poate crește pînă la 16 zile, cu prelungirea concomitentă a duratei etapelor de consolidare. Fiecare cură de 5 zile este reprezentată de schema COAP (tabel XXIX). Concomitent, se începe iradierea craniană pe 2 cîmpuri laterale opuse cu sursă de cobalt sau accelerator linear, în doză de 2 400 r repartizată în 12 ședințe (o ședință pe zi, zilnic). Pe durata iradierii se administrează intrarahidian cîte o doză de 7,5 mg de MTX/m², 6 doze în total, repartizate la intervale egale. Dacă citopenia se accentuează, dozele din protocolul COAP pot fi diminuate, *pentru a se continua iradierea și administrarea de MTX intrarahidian.*

c) *Menținerea remisiunii complete prin chimioterapie ciclică.* Durează pînă la recădere sau 130 de săptămîni ($2^1/_2$ ani) de la obținerea remisiunii complete. Tratamentul de menținere cuprinde alternativ, schema POMP—CART—COAP, cu durată de 5 zile fiecare și pauză de 9—16 zile în funcție de valorile hemoleucogramei (Tabel XXX).

Este de menționat, alături de durata remisiunii complete (peste 3 ani la 98% din cazuri) și faptul că nici unul din pacienți nu a dezvoltat neuroleucemie.

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL XXIX



(Spiers și col.) (39)

TABELUL XXX

Drogul	ziua administrării	calea de adm.
COAP (modificat)		
Ciclofosfamidă 100 mg/mp/zi	ziua 1—5	per os
Oncovin (VCR) 1 mg (2 mg pentru adulți)	ziua 1	i. v.
Ara-C (Cytosar) 100 mg/mp/zi	ziua 1—5	i. v. sau i.m.
Prednison 100 mg la copii, 200 mg la adulți (doză/zi)	ziua 1—5	per os
POMP (modificat)		
Prednison 100 mg/zi la copii 200 mg/zi la adulți	ziua 1—5	per os
Oncovin (VCR) 1 mg la copii, 2 mg la adulți	ziua 1	i. v.
Metotrexat 7,5 mg/mp/zi	ziua 1—5 (sau: 1—3)	i. v. sau i.m.
Purinéthol (6MP) 300 mg/mp/zi	ziua 1—5	per os
CART (modificat)		
Cytosar 100 mg/mp/zi	ziua 1—5	i.v. sau i. m.
L-Asparaginază 30 000 UI/mp/zi	ziua 1, 4, 7, 10, 13	i.m. sau s.c.
Rubidomicină (Cérubidine) 40 mg/mp/zi	ziua 1	i.v.
6-Thioguanină 100 mg/mp/zi	ziua 1—5	per os.

** = se poate administra o perioadă mai scurtă dacă se constată citopenie. (Spiers și col) (39)

Scanned with OKEN Scanner

III. TRATAMENTUL RECĂDERILOR MENINGO-CEREBRALE. Frecvența implicațiilor neuromeningiene în LAL (50—60% din cazuri) a impus iradierea inițială craniană în cazul leucocitozelor peste 100 000/mmc și introducerea în fiecare protocol chimioterapic a etapei de profilaxie, constînd în iradiere encefalică și administrarea intrarahidiană de chimioterapice. Ca urmare, frecvența neuroleucemiei a scăzut la 10% (4). S-au observat totuși recăderi strict meningo-cerebrale, însoțite uneori de o simptomatologie minoră, apărute în cursul remisiunii complete clinice și hematologice. Diagnosticul este neurologic sau prin examenul LCR, care relevă un număr de blaști ⩾ 6/mmc. Tratamentul constă în administrarea de MTX 5 mg/m²/zi intrarahidian la 3 zile pînă la remisiune clinică și biologică, ulterior o dată pe săptămînă în prima lună, în continuare o dată la 2 săptămîni și apoi continuu, lunar. În cazurile refractare se asociază iradiere cu 1 500—2 000 r cu Co^{60} sau accelerator linear (8). Date recente atrag însă atenția asupra efectelor secundare severe ale chimioterapiei intrarahidiene (25, 30, 46). Se preferă din acest motiv, după obținerea remisiunii complete, administrarea *lunară* intrarahidiană a citostaticului (MTX sau Ara-C) (31).

IV. METODE TERAPEUTICE DE REZERVĂ

1. *Monoterapia cu Vindésine.* (29). Se află în faza de experiment clinic, aplicîndu-se la pacienții refractari la alte chimioterapice. Se administrează în doză de 2 mg/m²/zi, i.v., timp de 2 zile, în perfuzie continuă pe durata celor 48 de ore. Urmează pauză terapeutică 7 zile, după care ciclul de 48 de ore se poate relua dacă nu s-a obținut remisiunea completă. Se aplică maximum 1—3 cicluri de 48 de ore. S-au obținut 47% remisiuni complete la pacienții cu LAL care erau considerați în afara posibilităților terapeutice actuale. Drogul prezintă toxicitate hematopoietică intermediară între vincristină și vinblastină.

2. *Monoterapia cu Vépéside (VP 16.213).* Este rezervată cazurilor de leucemie acută cu imunoblaști, unde pare să fie singura activă în inducerea remisiunii complete. O modalitate de aplicare este descrisă la pag. 214.

3. *Transplantul de măduvă hematopoietică.* În condițiile tehnice actuale, rămîne o metodă de excepție. Se efectuează tiparea HLA—A, HLA—B, testul MLC, proba compatibilității ABO și după alegerea donorului adecvat, se condiționează primitorul în vederea transplantului prin schema SCARI. Măduva donorului se administrează i.v., în doză de $2{,}87 \times 10^8$ celule /Kgc. Pacienții care dezvoltă ulterior o reacție de grefă—contra—gazdă semnificativă ca intensitate, primesc tratament cortizonic (44 bis). Deși prin transplantul de măduvă autologă riscul de reacție de grefă-contra-gazdă este virtual îndepărtat, se

Scanned with OKEN Scanner

preferă utilizarea unui alt donor, pentru a se evita repopularea cu celule leucemice. Rezultatele favorabile amintite anterior justifică extinderea metodei.

În concluzie, în LAL se adoptă următoarea atitudine terapeutică :

1. dacă nr. leucocitelor din sîngele periferic este peste 100 000/mmc, se impune iradierea craniană concomitent cu chimioterapia de inducție;

2. chimioterapia de inducție se alege în funcție de factorii de prognostic preterapeutic ;

3. apariția recăderii sau lipsa de răspuns terapeutic la schema inițială impun adoptarea protocolului complex, eventual recurgerea la metodele terapeutice de rezervă;

4. la 2—3 săptămîni după chimioterapie se recomandă imunoterapia, care permite prelungirea netă a duratei primei remisiuni complete ;

5. în cursul remisiunii, se impune supravegherea atentă neurologică, eventual ex. periodic al LCR pentru decelarea eventualelor recăderi meningo-cerebrale.

BIBLIOGRAFIE

1. *Acar S., Tekinalp G., Oszoylu S. et al.* Acta Haematol., 1977, *57*, 3, 188.
2. *Advani S. H.* Letter : Blood, 1975, *46*, 990.
3. *Advani S. H., Nadkarni J. S., Nadkarni J. J. et al.* Indian J. Cancer, 1977, *14*, 3, 281.
4. *Amiel J.—L* Nouv. Presse Méd., 1977, *6*, 29, 2595.
5. *Barreti S. G., Schwade J. G., Ranken R et al.* Blood, 1977, *50*, 1, 71.
6. *Belpomme D., Mathé G., Davies A. J. S.* Lancet, 1977, *I*, 8011, 555.
7. *Bender-Goetze C.* Leuk. Abstr. 1977, *25*, 8, 783.
8. *Berceanu St.* (sub red.) *Hematologie Clinică*. Ed. Med., București, 1977. 497, et pass.
9. *Brouet J. C., Valensi F., Daniel M. T. et al.* Br. J. Haematol., 1976, *33*, 319.
10. *Capatti P. R., Pereira Neto M.* Leuk. Abstr. 1977, *25*, 12, 1263.

10 bis. *Carpentier N. A., Lange G. T., Fiere D. M. et al.* J. Clin. Invest., 1977, *60*, 4, 874.

11. *Chessels J. M., Hardisty R. M., Rapson N. T. et al.* Lancet, 1977, *II*, 8052, 1307.
12. *Dearth J. C., Fountain K. S., Smithson W. A. et al.* Mayo Clin. Proc., 1978, *53*, 4, 207.
13. *Dicke K. A., McCredie K. B., Stevens E. E. et al.* Transpl. Proc., 1977, *9*, 1, 193.
14. *Dow L. W., Borella L., Sen L. et al.* Blood, 1977, *50*, 4, 671.
15. *Ezaki K., Hersh E. M., Keating M. et al.* Cancer, 1978, *41*, 1.
16. *Fefer A., Buckner C. D., Thomas E. D. et al.* New Engl. J. Med., 1977, *297*, 3, 146.
17. *Gajl-Peczalska K. J., Bloomfield C. D., Nesbit M. E. et al.* Clin. Exp. Immunol., 1974, *17*, 561.
18. *Hann H.—W. L. et al.* Cancer, 1977, *39*, 5, 2001.
19. *Kamimura O.* Leuk. Abstr., 1978, *26*, 4, 4012.
20. *Kersey J., Nesbit M., Hallgren H. et al.* Cancer, 1975, *36*, 1348.
21. *Kislyak N. S., Bergol'ts V. M., Eremeev V. S. et al.* Leuk. Abstr., 1977, *25*, 12, 1302.
22. *Konior Yarbro G. S., Lippmann M. E. et al.* Cancer Res., 1977, *37*, 8, 2688.
23. *Khanykova O. K., Vinogorova G. F.* Leuk. Abstr., 1978, *26*, 4, 406.
24. *Lane D. M., George St. L., Komp D. et al.* Cancer, 1977, *40*, 2005.
25. *Lawrence H. J., Simone J., Aur RJA.* Cancer, 1975, *36*, 1572.

Scanned with OKEN Scanner

26. *Mathé G., Belpomme D., Dantchev D. et al.* Blood Cells, 1975, 1, 37.
27. *Mathé G., Amiel J.—L., et al.* Biomédecine, 1977, *26*, 1, 29.
28. *Mathé G., Kenis Y. La Chimiothérapie des Cancers. III-ème éd.*, 1975, Exp. Sci. Fr., 265 et pass.
29. *Mathé G., Misset J.—L., Vassal F. De et al.* Nouv. Presse Méd., 1978, *7*, 525.
30. *McIntosh S., Fischer D. B., Rothman S. G. et al.* Journal of Ped., 1977, *91*, 6, 909.
31. *Morgan E., Donaldson M. H., Meadows A. T.* Cancer, 1977, *40*, 1005.
32. *Morris C. R., Blackwell L. H., Loveless V. S.* J. Med., 1977, *8*, (3—4), 253.
33. *Murphy S. B., Borella L., Sen L. et al.* Br. J. Haematol., 1975, *31*, 95.
34. *Palutke M., Patt D. J., Weise R. et al.* J. Clin. Path., 1977, *68*, 4, 429.
35. *Reid M. M., Craft A. W., Walker W.* Letter. Lancet, 1977, *II*, 8047, 1074.
36. *Scavino H. F., George J. N., Sears D. A.* Cancer, 1976, *38*, 672.
37. *Schumacher H. P., Perlin E., Klos J. R. et al.* Am. J. Clin. Path., 1977, *68*, 4, 530.
38. *Schwenk H. U.*, Leuk. Abstr., 1978, *26*, 1, 94.
39. *Spiers A. S. D., Roberts P. D., Marsh G. W. et al.* Br. Med. J., 1975, *4*, 614.
40. *Taylor C. R. Hodgkin's Disease and the Lymphomas*, vol 2, 1977. Ann. Res. Rev., 1978, 61 et pass.
41. *Thomas E. D., Buckner C. D., Banaji M. et al.* Blood, 1977, *49*, 4, 511.
42. *Trux F., Fink R., Wulke K.* Leuk. Abstr., 1978, *26*, 4, 450.
43. *Tsukimoto I.* Leuk. Abstr., 1977, *25*, 12, 1354.
44. *Uchiyama T., Yodoi J., Sagawa I. et al.* Blood, 1977, *30*, 3, 481.
44. bis. *UCLA Bone-Marrow Transplantation Team.* Lancet, 1977, *II*, 8050, 1197.
45. *Wiernik P. H.* Conn. Med., 1975, *39*, 681.
46. *Young L. W., Jequier S., O'Gorman A. M.* Leuk. Abstr., 1978, *26*, 3, 352.

Tratamentul leucemiilor acute nelimfoblastice

A. Elemente de prognostic preterapeutic.

Opţiunea terapeutică se face în funcţie de factorii de prognostic, reprezentaţi de: 1. tipul citologic, comportamentul celulelor în cultură şi cariotipul clonei blastice; 2. vîrsta şi starea imună a pacientului în momentul diagnosticului.

Criteriul morfologic şi citochimic permit diferenţierea a cinci tipuri citologice în cadrul leucemiilor acute nelimfoblastice:

1. *leucemia acută mieloblastică.* Reprezintă aproximativ 85% din totalul cazurilor de leucemii acute nelimfoblastice (14). Clona patologică prezintă granulaţii azurofile şi corpi Auer, reacţia peroxidazelor şi Sudan pozitive, uneori şi naphtol AS-D cloracetat-esteraza pozitivă (Tabel XXXI). Supravieţuirea mediană postterapeutică variază între 6—10 luni (14, 21);

2. *leucemia acută promielocitară.* Se întîlneşte relativ rar (3—6% din cazurile de leucemii acute nelimfoblastice) (14); prezintă un tablou clinic particular, caracterizat prin sindrom hemoragic sever, datorat coagulopatiei de consum şi absenţa infiltraţiei extramedulare,

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL XXXI

Reacțiile citochimice folosite pentru clasificarea LANLb (14)

	LAM	LAP	LAMo
PEROXIDAZA (sau Sudan black-B)	++	++++	− →+
Naftol AS-D cloracetate-esteraza	0→++	+++	−
N-AS-D acetat-esteraza	+−→++	++	++++
N-AS-D acetat-est. + NaF	neinhibată	neinhibată	inhibată
PAS	− → +	− →+−	− →+
FOSFATAZA ACIDĂ	+− difuză	++	+++ difuză
beta-glicuronidaza	+−(difuză)		++ (difuză)

răspuns prompt la tratamentul cu daunorubicină și heparină, prognostic favorabil: aprox. 12% din cazuri supraviețuiesc peste 72 luni. Clona patologică are aspect promielocitar, cu corpi Auer uneori „în snopi". Citochimic, prezintă aceleași caracteristici ca și leucemia acută mieloblastică;

3. *leucemia acută monocitară.* Se întîlnește în 6% din cazuri. Se caracterizează prin frecvența infiltrației extramedulare, cu predilecție cutanată și gingivală, răspuns terapeutic favorabil la Vépéside (27) și prognostic rezervat (mediana supraviețuirii este de 6 luni; aprox. 3% din cazuri supraviețuiesc peste 36 luni). Reacția pentru N-AS-D acetat-esterază în clona patologică este intens pozitivă și inhibată specific cu fluorură de sodiu. Morfologic, se disting trei categorii de leucemii acute monocitare, în funcție de gradul aparent de diferențiere (14): *LA monoblastică*, în care celulele patologice, foarte tinere, cu aspect monoblastic, sînt răspîndite în măduvă și sîngele periferic; *LA promonocitară*: clona patologică are aspect monoblastic în măduvă și promonocitar în sîngele periferic; *LA monocitară* propriu-zisă, în care se întîlnesc toate cele trei stadii de diferențiere celulară (monoblaști, promonociți și monociți, ultimii predominînd în sîngele periferic). Tipul monoblastic predomină în jurul vîrstei de 5 ani, tipul promonocitar are o răspîndire aproximativ egală pe vîrste, iar tipul monocitar propriu-zis predomină peste 60 de ani (14);

4. *leucemia acută mielo-monocitară.* Se întîlnește frecvent, însă datele variază după autor. Flandrin și Jean Bernard raportează o incidență aproximativ egală cu a leucemiei acute mieloblastice (14),

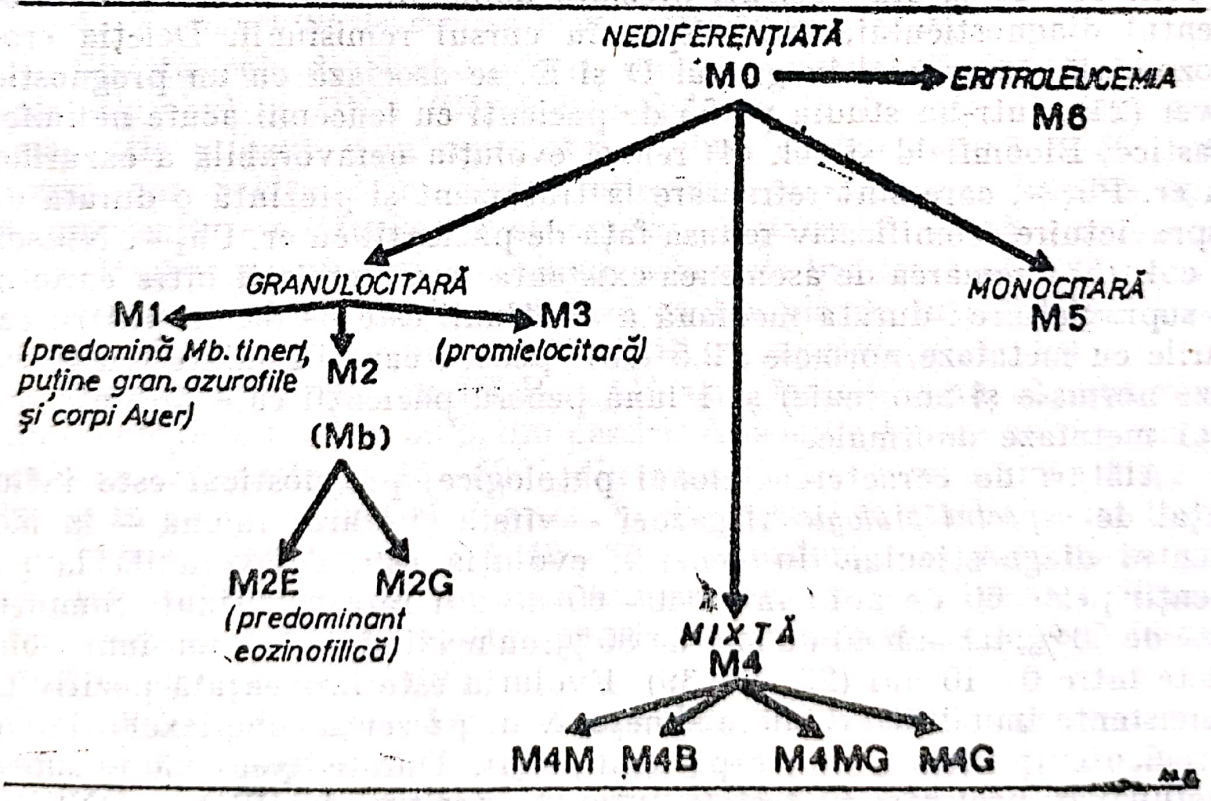
Scanned with OKEN Scanner

Citologic, există două posibilităţi de exprimare (28): fie o populaţie celulară unică şi omogenă, dar în care fiecare element are aspect intermediar între mieloblast şi monoblast, fie o populaţie celulară aparent dublă, monocitoidă şi mieloblastică, ambele cu profil citochimic corespunzător (2). Izolarea ca entitate clinică a LA mielo-monocitare are deopotrivă însemnătate teoretică, pledînd în favoarea unui precursor comun al celor două linii celulare, cît şi practică, impunînd asocierea de VP 16.213 la citostaticele active pe linia granulocitară ;

5. *eritroleucemia.* Se întîlneşte în 4% din cazurile de leucemie acută nelimfoblastică (14) şi reprezintă proliferarea eritroblaştilor anormali în măduvă (peste 40%), rezistenţi la proba terapeutică cu vit. B_{12} şi acid folic, alături de celule imature atipice aparţinînd liniei granulocitare (28). Remisiunea se obţine dificil, iar recăderile se fac de obicei sub forma LAM ;

Galton şi Dacie (16) propun o notare numerică pentru diferitele tipuri citologice de LA nelimfoblastice, dar care nu a intrat în uz (Tabel XXXII).

TABELUL XXXII



Alături de tipul morfologic şi citochimic, *caracterele de cultură ale clonei patologice* sînt un alt factor de prognostic, a cărui valoare a fost recent confirmată. Într-un studiu pe 30 de pacienţi cu LA ne-

limfoblastică, Hoernsten și col. (17) observă că toate cazurile la care s-a obținut ulterior remisiune completă, au prezentat în momentul diagnosticului activitate de stimulare a coloniilor (CSA) și celule formatoare de colonii (CFC), în timp ce 14 din cele 18 cazuri refractare la tratament nu au prezentat nici unul sau numai unul din caractere. Zabelina și col. (50) remarcă de asemenea un prognostic favorabil la pacienții cu LAM și LAMo care și-au păstrat capacitatea de formare a coloniilor. Absența proliferării *in vitro*, absența formării de colonii și dezvoltarea unor mari „cuiburi" celulare (peste 40 de celule) se asociază cu un prognostic sever. Rata remisiunii complete a fost de 13%, față de 94% pentru pacienții din primul grup (31). Dacă se cultivă celulele aspiratului medular în prezența timidinei tritiate, se obține marcarea celulelor care sintetizează ADN. Indicele de marcaj, reprezentînd procentajul celulelor marcate, este mai scăzut pentru blaștii leucemici decît pentru blaștii normali. Pacienții la care se constată un indice de marcaj foarte scăzut, sînt în general refractari la tratament, în timp ce cazurile cu indice crescut prezintă răspuns prompt, dar tranzitoriu (21).

Relația între *cariotipul* clonei patologice și prognostic este certă. Aprox. 30—50% din pacienți prezintă anomalii cromozomiale în momentul diagnosticului, care dispar în cursul remisiunii. Deleția cromozomială, în special în grupul D și E, se asociază cu un prognostic sever (21). Intr-un studiu pe 55 de pacienți cu leucemii acute nelimfoblastice, Bloomfield și col. (4) relevă evoluția nefavorabilă a cazurilor cu cr. Ph_1+, care sînt refractare la tratament și prezintă o durată de supraviețuire semnificativ redusă față de pacienții cu cr. Ph_1-. Nilsson și col. (33) remarcă de asemenea existența unei corelații între cariotip și supraviețuire : durata mediană a afecțiunii este de 8 luni pentru cazurile cu metafaze normale ; 2,5 luni pentru cazurile mixte (cu metafaze normale și anormale) și 1 lună pentru pacienții care prezintă numai metafaze anormale.

Alături de caracterele clonei patologice, prognosticul este influențat de *aspectul biologic* al gazdei — vîrsta și starea imună — în momentul diagnosticului. În general, evoluția este defavorabilă la pacienții peste 60 de ani ; între 40—60 de ani rata remisiunii complete este de 50%, iar sub 40 de ani, de 80%, cu maximum de remisiuni complete între 0—10 ani (26, 37, 39). Evoluția este influențată pozitiv de persistența imunității celulare și negativ de prezența complexelor imune circulante (probabil, anticorpi facilitanți). Durata mediană a supraviețuirii la pacienții cu testele cutanate pozitive la PPD și DNCB a fost de 11 luni, față de 6 luni la pacienții negativi (45). În funcție de aspectul umoral al imunității, durata mediană de supraviețuire a fost de 2 luni la pacienții care au prezentat în momentul diagnosticului complexe imune circulante, față de peste 18 luni la cazurile negative (7).

Scanned with OKEN Scanner

B) Principii şi scheme terapeutice în LA nelimfoblastice

Posibilităţile terapeutice în leucemiile acute nelimfoblastice sînt: chimioterapia, pentru inducţia şi menţinerea remisiunii, imunoterapia pentru prelungirea duratei remisiunii complete şi radioterapia combinată cu administrarea de citostatice intrarahidiană, în cazurile rare de afectare neuro-meningee. Transplantul de măduvă hematopoietică rămîne o metodă de rezervă pentru cazurile refractare.

Citostaticele folosite pentru inducţia remisiunii sînt: citozin-arabinozidul (CAR), daunorubicina (DRB), adriamicina (ADM), VP 16.213. Pentru menţinerea remisiunii se utilizează: metotrexatul (MTX), 6-mercapto-purina (6—MP), metil-glioxalul (MGGH), eventual CAR. În alcătuirea schemelor terapeutice intră de asemenea un număr de citostatice care potenţează acţiunea celorlalte droguri, dar, administrate singure, sînt inactive în leucemiile acute nelimfoblastice: 6-tioguanina (6—TG), vincristina (VCR), ciclofosfamida (CPM), CCNU, prednisonul (PDN).

Criteriul esenţial de opţiune terapeutică este tipul citologic al clonei blastice.

1. *Tratamentul leucemiei acute mieloblastice (LAM)*

Citostaticele de elecţie pentru inducţia remisiunii sînt: CAR (Cytosar-Upjohn) şi DRB (Cérubidine-Spécia). În funcţie de protocolul terapeutic utilizat, s-au raportat remisiuni complete pînă la 80% din cazuri, dar rezultatele nu sînt întotdeauna comparabile, datorită lipsei de omogenitate a loturilor în studiu (nr. de pacienţi, vîrstă, stare imună etc.). Pentru menţinerea remisiunii, schemele încercate pînă în prezent sînt nesatisfăcătoare. Este cert însă că terapia de întreţinere măreşte durata remisiunii complete şi implicit, a supravieţuirii (10).

Prin monoterapie cu DRB, CAR sau MGGH s-au obţinut remisiunii complete pînă la 30% din cazuri. Asocierile binare au determinat remisiuni complete la 16—60% din cazuri, dar şi un număr mare de decese în cursul inducţiei (aprox. $^1/_3$ din cazuri în statistica lui Crowther şi col., care raportează 49—60% remisiuni). În prezent se preferă schemele complexe, ternare sau cuaternare, care permit diminuarea riscului de deces postterapeutic la un procentaj aprox. identic de remisiuni complete (28).

I. *SCHEMA BINARĂ.* Protocolul 12 LAM 75 al Spitalului Saint-Louis, adoptat cu modificări de grupul de studiu din Bordeaux (6), a permis obţinerea unui procent de 60% remisiuni complete, cu o durată medie de 7,5 luni şi recul maxim 16 luni.

a) *Inducţia remisiunii* (Tabel XXXIII): se administrează Cytosar i.v. 100 mg/m²/zi, timp de 7 zile şi Cérubidine i.v. 45 mg/m²/zi în primele trei zile. Se asociază Stanozolol 0,3 mg/Kg-corp/zi, ca ana-

TABELUL XXXIII

Tratamentul LAM (schema binară — protocol Bordeaux) (6)

INDUCȚIA

ziua		1	2	3	4	5	6	7
trat.	CAR mg/m²	100	100	100	100	100	100	100
	DRB mg/m²	45	45	45	—	—	—	—

MENȚINEREA REMISIUNII

ziua		1	2	3	4	5
trat.	CAR mg/m²	100	100	100	100	100
luna I 6MP mg/m²		100	100	100	100	100
luna a II-a CPM mg/m²		600	—			
luna a III-a DRB		45	45	(mg/m²)		

Se repetă 1 an. Ulterior: imunoterapie

bolizant androgen, pe o durată de minimum trei luni. O altă schemă de inducție, cuprinzînd o cură scurtă de Cytosar urmată de 10 administrări de MGGH, 350 mg la două zile, a fost abandonată ca ineficientă.

b) *Terapia de menținere a remisiunii* : timp de 1 an, se administrează lunar o cură de 5 zile de Cytosar în doză de 100 mg/m²/zi, asociat în cicluri rotatorii, cu 6-MP (100 mg/m²/zi cinci zile) în luna I ; CPM 600 mg/m², o singură zi (ziua 1) în luna a II-a și DRB 45 mg/m²/zi, ziua 1 și 2 în luna a III-a, după care ciclul se repetă, începînd cu 6MP.

Peterson și Bloomfield (36), într-un studiu pe 27 de pacienți, peste 60 de ani, obține 30% remisiuni complete și consideră inducția cu Cérubidine și Cytosar drept cea mai eficientă la vîrstnici. Studiile—pilot ale grupului ALGB (18), care raportează 80% remisiuni complete aplicînd același protocol, consideră terapia de menținere ca nesatisfăcătoare și remarcă prelungirea duratei de supraviețuire prin asocierea imunoterapiei active (de la 22 de săptămîni la peste 78 de săptămîni pentru pacienții care au primit chimio-imunoterapie) (3). Folosind același protocol de chimio-imunoterapie, dar modificînd schema de întreținere prin excluderea 6-MP, CPM și DRB din cicluri, pe care le înlocuiește cu 6-TG și metil-CCNU, Holland și col. ameliorează ulterior durata de supraviețuire : 5—20% din cazuri sînt în viață la 2 ani și 50% din aceștia, la 3 ani de la obținerea remisiunii complete (19).

II. SCHEMELE COMPLEXE (TERNARE, CUATERNARE)

1. *Protocolul Melbourne* (Tabel XXXIV).

Whiteside și col. (49), într-un studiu pe 39 de pacienți, raportează un procent de 33—71% remisiuni complete, în funcție de schema de inducție aplicată, cu o durată remarcabilă a primei remisiuni (peste 19 luni) și a supraviețuirii (peste 37 de luni).

a) *Inducția remisiunii complete.* Se administrează Cytosar 200 mg/m²/zi timp de 4 zile, injectat rapid intravenos ; 6-TG 100 mg/m²/zi per os, timp de 4 zile și Daunorubicină 40 mg/m² i.v. în ziua 1. Cura se repetă la 4 zile sau la intervale mai mari, în funcție de valorile hemoleucogramei, pînă la obținerea remisiunii complete, care a survenit în 66% din cazuri. O altă schemă de inducție, asociind CAR, DRB, VCR și PDN a determinat un procent de 71% remisiuni complete : se administrează Cytosar 120 mg/m²/zi timp de 4 zile, injectat rapid i.v. ; DRB 50 mg/m² i.v. în ziua 1 ; VCR 1,4 mg/m² i.v. în ziua 1 și PDN 40 mg/zi per os timp de 4 zile. Cura se repetă de asemenea la 4 zile sau la intervale mai lungi, în funcție de gradul citopeniei, pînă la obținerea remisiunii complete.

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL XXXIV

Tratamentul LAM (protocol Melbourne) (49)

INDUCȚIA — I

ziua		1	2	3	4
trat.	(mg/m²)				
	CAR	200	200	200	200
	6-TG	100	100	100	100
	DRB	40	—	—	—

sau : INDUCȚIA — II

ziua	1	2	3	4
trat. (mg/m²)				
CAR	120	120	120	120
DRB	50	—	—	—
VCR	1,4	—	—	—
PDN	40	40	40	40

curele se pot repeta la intervale de 4 zile pînă la remisiune

MENȚINEREA REMISIUNII

ziua	1 — 4	6	8	15	22
luna I	↓				
II	CAR+MTX	↓	↓	↓	↓
III	CAR+6TG ;	DRB ;	VCR	CL+BCG	CL+BCG
				CL+BCG	CL+BCG

se repetă de 6 ori,
apoi : imunoterapie.

b) *Tratamentul de menținere a remisiunii* : constă în chimio-imunoterapie ciclică. În luna 1 și 2 de la obținerea remisiunii complete se administrează : Cytosar 60 mg/m²/zi subcutanat și MTX 20 mg/m²/zi per os, ambele citostatice numai în ziua 1 și 4. În ziua a VIII-a se administrează VCR în doză de 1,5 mg/m² i.v., iar în ziua 15 și 22, un număr de 3×10^8 celule leucemice înghețate la —70°C și iradiate cu 10 000 r (aparat Müller RT 100-X cu 100 KV, 8mA, 2 mm. Aluminiu, 100 r/min) și BCG, 75 mg/ml (1 mg de vaccin liofilizat conținînd $6—20 \times 10^6$ organisme viabile, se reconstituie cu ser fiziologic și se administrează pe 20 de scarificații la 2 mm profunzime, alternativ la nivelul deltoizilor). Celulele leucemice înghețate și iradiate se administrează intradermic, în 4 sedii diferite, în jurul BCG. În luna a III-a se administrează : Cytosar, 200 mg/m²/zi i.v. și 6-TG 100 mg/m²/zi per os numai în ziua 1 și 4 ; în ziua a VI-a se administrează DRB, 40 mg/m² i.v., iar în ziua 15 și 22 se administrează celulele leucemice și BCG în același mod. Ciclul de trei luni se repetă de 6 ori. După 18 luni se întrerupe chimioterapia și se continuă imunoterapia la interval de două săptămîni.

Dată fiind incidența redusă a infiltrației SNC, autorii nu au considerat necesară profilaxia neuro-meningee.

2. *Protocolul Lyon* (12, 13) (Tabel XXXV).

a) *Inducția remisiunii*. Diferă în funcție de starea biologică a pacientului în momentul diagnosticului. Pentru cazurile sub 65 de ani și fără tare viscerale se aplică un protocol cu durata de 7 zile, care comportă : Daunorubicină 60 mg/m²/zi i.v. în ziua 1, 2 și 7 ; Vincristină 1 mg/m² i.v. în ziua a 3-a ; Cytosar 240 mg/m²/zi i.v. în ziua 4, 5, 6 și 7. Pentru bolnavii tarați sau peste 65 de ani se preferă un protocol de 6 zile cu excluderea Daunorubicinei și reducerea dozei de Cytosar. Se administrează : Ciclofosfamidă 600 mg/m² i.v. în ziua 1 ; Vincristină 1 mg/m² i.v. în ziua a 2-a ; Cytosar 210 mg/m²/zi i.v. în ziua 3, 4, 5, 6. Dacă nu s-a obținut remisiunea completă, cura poate fi repetată la un interval minim de 3 săptămîni.

b) *Menținerea remisiunii* : cuprinde 3 perioade terapeutice succesive : 1. faza de *consolidare* : începe imediat după obținerea remisiunii complete, durează trei luni și constă în reluarea lunară a curei de inducție inițială, fără Daunorubicina finală în protocolul obișnuit, sau aceeași cură în cazul pacienților tarați (protocolul de 6 zile) ; 2. faza de *profilaxie* neuro-meningee : începe la două săptămîni de la sfîrșitul curei de consolidare și constă în iradiere craniană timp de 18 zile, totalizînd 2 400 r pe două cîmpuri laterale opuse și administrare concomitentă de MTX, 4—6 inj. intrarahidiene a 12 mg/m² ; 3. perioada de *întreținere* : începe la două săptămîni de la sfîrșitul iradierii. Toți pacienții primesc o cură de 5 zile , constînd din : CPM 600 mg/m² ziua 1, i.v. ; metil-glioxal (MGGH) 200 mg/m² i.v., ziua 1 ; Vincristină

TABELUL XXXV

Tratamentul LAM (protocol Lyon) (12, 13)

INDUCȚIA-I

ziua	1	2	3	4	5	6	7
trat. (mg/m²)							
DRB	60	60	—	—	—	—	60
VCR	—	—	1	—	—	—	—
CAR	—	—	—	240	240	240	240

sau : INDUCȚIA-II

ziua	1	2	3	4	5	6	—
trat. (mg/m²)							
CPM	600	—	—	—	—	—	
VCR	—	1	—	—	—	—	
CAR	—	—	210	210	210	210	

curele pot fi repetate la 3 săpt. pînă la remisiune completă.

MENȚINEREA REMISIUNII

faza	tratament
I	reluarea lunară a chimioterapiei de inducție (redusă, pentru schema I), timp de trei luni.
II	— profilaxie neuromeningee : 2 400 r + 4—6 inj. i.r. MTX

III — Întreținere :

ziua	1	2	3	4	5
trat. (mg/m²)					
CPM	600	—	—	—	—
MGGH	200	—	—	—	—
VCR	—	1	—	—	—
CAR	—	—	210	210	210

după 2 zile de la sfîrșitul fazei a III-a : IMUNOTERAPIE cu BCG

1 mg/m² i.v.. ziua a 2-a ; Cytosar 210 mg/m² în ziua 3, 4, 5. Se administrează de asemenea Stanozolol 0,2 mg/Kgc/zi sau Metil-testosteron, 1 mg/Kgc/zi, pe o durată de minimum 3 luni. La două zile după cura de 5 zile, se începe imunoterapia cu BCG, o dată pe săptămînă : se aplică prin scarificare 3 fiole a 80 mg, repartizate pe 4 zone diferite, cuprinzînd cîte 20 scarificaţii fiecare, la 2 mm profunzime.

Pe 34 de bolnavi aflaţi în studiu, autorii obţin remisiuni complete la 75% din cazurile sub 65 de ani şi la 40% din cazurile peste 65 de ani. Aplicînd protocolul Lyon, clinica noastră a confirmat rezultatele bune ale autorilor, durata maximă a remisiunii complete fiind de 13 luni şi recul peste 29 de luni.

Spiers şi col. (43), folosind un protocol cu 3 asocieri quadruple de droguri, administrate ciclic (6-TG, DRB, CAR, PDN ; COAP, POMP) obţine rezultate similare : 60% remisiuni complete cu o durată mediană de 16 luni şi supravieţuire peste 24 de luni, pentru 13%din pacienţi.

2. *Tratamentul leucemiei acute promielocitare* (*LAP*) constă în :

a) *administrare de rubidomicină* (Daunorubicin, Cérubidine), drog care a schimbat fundamental evoluţia fulminantă a LAP. Cf. protocolului lui J. Bernard şi col. (3', 3") : se administrează 4 injecţii zilnice de 1,5—2 mg/Kg corp (sau 45—60 mg/m²), apoi repaus terapeutic timp de 3 zile, după care tratamentul se va conduce în funcţie de aspectul citologic al măduvei osoase. Doza totală medie necesară pentru remisiune este de 300 mg/m², sau 25 mg, pînă la maximum 30 mg/Kg.corp ;

b) din cauza distrucţiei masive de promielocite, odată cu rubidomicina se va institui şi tratament masiv cu *concentrat plachetar*, deoarece intră în circulaţie substanţe procoagulante în mare cantitate, cu pericol de CIVD ;

c) *tratamentul cu heparină*, deşi controversat, trebuie instituit de îndată ce fibrinogenul sanghin a scăzut sub 1 g‰ şi va fi menţinut cît timp testele de paracoagulare sînt pozitive. Se începe cu doza de 1,5—2 mg/Kg.corp/zi, care se menţine cît timp persistă manifestările hemoragice, scăzîndu-se ulterior la 1 mg/Kg.corp. Autorii rămîn rezervaţi în administrarea heparinei la bolnavii cu plachetopenie importantă şi fibrinogen peste 1 g ‰. De menţionat că J. Bernard şi col. publică remisiuni complete la rubidomicină cu revenirea la normal a fibrinogenului, atît la bolnavii trataţi cu heparină, cît şi la cei fără heparină ;

d) pentru *prevenirea infecţiilor*, foarte frecvente la aceşti bolnavi, se recomandă administrarea orală de antibiotice neabsorbabile şi unde este posibil, mediu aseptic. În caz de infecţie declarată este nevoie de antibioterapie masivă, conform antibiogramei şi transfuzii de leucocite.

Weil şi col. (49') atrag atenţia asupra următoarelor aspecte :

Scanned with OKEN Scanner

— etalarea defectuoasă datorită sindromului de CIVD poate crea impresia falsă de hipoplazie medulară, fapt care poate duce la oprirea tratamentului înainte de a se produce hipoplazia terapeutică reală ;

— invers, unele promielocite fără activitate leucemică pot să persiste cîtva timp și în cazul în care procentul lor este important, pot sugera continuarea tratamentului citostatic, creind pericolul unei aplazii terapeutice ireversibile ;

— după administrarea citostaticului, în perioada de refacere medulară, procesul de regenerare poate duce tranzitoriu la un exces de promielocite ; se va avea grijă a nu fi considerate drept puseu evolutiv leucemic, lucru de altfel simplu, dat fiind aspectul diferit față de promielocitul malign.

Tratamentul de întreținere cf. aceluiași protocol (3', 3''), constă în :

— administrare de Purinéthol 90 mg/m²/zi, zilnic, asociat cu :

— Metotrexat 15 mg/m² priză unică săptămînală, sub control periodic al hemoleucogramei și funcțiilor hepatice, adaptînd dozele în raport cu toleranța individuală, sau sistînd tratamentul, la apariția toxicității hepatice (icter colestatic).

Protocolul de consolidare a remisiunii, constînd în reluarea periodică a administrării de Cérubidine asociat cu Metil-GAG nu a intrat în uz (rezultate identice cu sau fără administrarea de rubidomicină și metil-glioxal ; toxicitate crescută miocardică).

3. *Tratamentul leucemiei acute monocitare* (*LAMo*)

Schemele terapeutice asociind ADM + VCR ; ADM + CAR ; MTX + VCR determină remisiuni în 20—30% din cazuri, dar durata evoluției nu depășește în medie 5 luni de la diagnostic (maximum 11 luni), deci supraviețuirea cazurilor tratate corespunde evoluției naturale a afecțiunii (22). Singurul citostatic strict specific în LAMo, care determină remisiuni complete de durată, este VP 16.213 (EPE) (Vépéside). Se poate administra pentru *inducție* i.v., în cicluri de 5 zile, doza zilnică fiind în medie de 50 mg/m². Doza totală pe ciclu este, în funcție de toleranța hematologică, 100—250 mg/m². Eficiență identică are și administrarea per os, în doză de 120 mg/m²/zi, în cicluri de cinci zile.

Dacă nu s-a obținut remisiunea, ciclul se poate repeta cînd valorile hematologice o permit, în general între 5—25 zile.

Terapia de *menținere* nu este încă definită. Pare justificată reinducția lunară cu EPE și imunoterapia (tabel XXXVI) (28, 29).

4. *Tratamentul leucemiei acute mielo-monocitare* (*LAMMo*)

Progresul terapeutic constă în introducerea compusului VP 16.213, care permite obținerea unor remisiuni de durată. Pentru *inducție* se asociază citostaticele active pe cele două serii patologice : CAR și VP 16.213. La adult, Mathé aplică următoarea schemă (Tabel XXXVII):

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL XXXVI

Tratamentul leucemiei acute monocitare (LAMo) (28, 29)

INDUCȚIA

ziua	1	2	3	4	5
trat. (mg/m²) VP 16.213	50	50	50	50	50

cura se poate repeta la 5—25 de zile pînă la remisiune.

MENȚINEREA REMISIUNII: nedefinită.

TABELUL XXXVII

Tratamentul leucemiei acute mielo-monocitare (LAMMo) — protocol Mathé (30)

INDUCȚIA (două faze)

A.

ziua	1	2	3	4
trat. (mg/zi) CAR	180	180	180	180

CURA SE REPETĂ la 5 zile pînă la un proc. de 20% Mb.m.o.

în continuare: faza B:

ziua	1	2	3	4	5
trat. (mg/zi) VP 16.213;	100	100	100	100	100

Cura se poate repeta la 5—25 de zile pînă la remisiune.

Tratament de menținere: nedefinit

Cytosar 180 mg/zi i.v. timp de 4 zile, urmat de o nouă cură de Cytosar la 5 zile interval. La sfîrșitul celei de a II-a cure de Cytosar se apreciază procentul de mieloblaști și celule monocitoide în aspiratul medular. Dacă procentul de mieloblaști este sub 20%, se întrerupe administrarea de Cytosar și se începe cura de Vépéside: se administrează 100 mg/zi i.v. timp de cinci zile, la 15—20 de zile interval, pînă la obținerea remisiunii complete.

Cele două citostatice se pot administra simultan, în funcție de valorile hemoleucogramei, starea generală și vîrsta pacientului. Cu acest protocol au fost obținute remisiuni complete la pacienți peste 60 de ani, considerați în afara resurselor terapeutice actuale. Numărul mic de cazuri studiate nu permite încă aprecierea statistică a rezultatelor și nici definirea schemei adecvate pentru chimioterapia de întreținere. Pare indicată reinducția lunară cu CAR și EPE, eventual imunoterapia.

Chimioterapia convențională determină rezultate variabile în funcție de autor, dar în general este considerată ineficientă. (30, 44, 15). Pawles și col. (38) raportează însă rezultate satisfăcătoare, aplicînd următorul protocol:

a. inducția remisiunii complete. Se administrează CAR 10 mg/Kgc în perfuzie continuă timp de 24 h., după care se injectează imediat i.v. DRB 1,5 mg/Kgc, iar după 24 de ore, se administrează doxorubicin (Adriblastine) 1,5 mg/kgc injectat i.v. Cura se repetă două săptămîni mai tîrziu. După alte două săptămîni, se administrează 3 cure scurte de CAR 2 mg/Kgc/zi și 6-TG 2 mg/Kgc/zi ambele timp de 3,4 și 5 zile respectiv, cu o pauză de 5 zile între cele trei cure Două săptămîni mai tîrziu, se administrează CPM 2 mg/kgc/ zi per os timp de 5 zile, urmată de o singură doză de DRB (1,5 mg/kgc) în ziua a 6-a. În general se obține remisiunea în cursul primei luni de tratament sau după cura Cytosar—6-TG.

b) *tratamentul de menținere a remisiunii.* Autorii au aplicat imunoterapie activă imediat după obținerea remisiunii complete sau uneori, în cursul chimioterapiei cu Cytosar și 6-TG, fără să utilizeze chimioterapie de întreținere. Imunoterapia standard a constat, la un lot de pacienți, în administrarea săptămînală de celule alogene leucemice iradiate (10^8—10^9 celule/doză) și separat, de BCG prin scarificare (10^6 organisme vii/doză). La un alt lot, s-a administrat *amestec* de celule alogene leucemice iradiate + BCG (10^7 celule + 10^6 organisme bacilare vii/injecție), patru injecții pe săptămînă, o dată la 3 săptămîni, alternativ cu imunoterapia „standard". Se administrează de 4 ori amestecul, la interval de 3 săptămîni, diluînd de fiecare dată doza de BCG. După aceste trei luni, pacienții primesc imunoterapie „de întreținere" standard, similară primului lot (Tabel XXXVIII).

Durata primei remisiuni complete a variat între 3—68 de săptămîni pentru imunoterapia standard și 35—119 săptămîni pentru lotul experimental. Studiul evidențiază deopotrivă resursele chimioterapiei convenționale și valoarea imunoterapiei.

5. *Tratamentul eritroleucemiei*

Nu se cunosc citostatice sau scheme terapeutice specifice. Aplicarea protocolului din LAM în diferite variante nu ameliorează evo-

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL XXXVIII

Tratamentul leucemiei acute mielo-monocitare LAMMo — protocol Pawles (38)

INDUCȚIA

ziua	1	2	3	cura se repetă la 2 săpt.	2 săpt pauză terapeutică
trat. (mg/Kg c)					
CAR	10	—	—		
DRB	—	1,5	—		
DOX	—	—	1,5		

3 cure : (pauză între cure = 5 zile)

CAR × 3 zile 6—TG

CAR × 4 zile 6—TG

CAR × 5 zile 6-TG

În continuare : IMUNOTERAPIE

luția naturală a afecțiunii, deși studiile pe animale sugerează eficiența agenților alkilanți și antimetaboliți. (40). De asemenea, un nou derivat de nitrozuree, RPCNU (ribofuranosil-nitrozureea) a determinat scăderea splenomegaliei și prelungirea semnificativă a duratei de supraviețuire în cazul eritroleucemiei murine induse de virusul Friend (23). Dintre chimioterapicele în fază de experiment clinic, s-au dovedit active Harringtonina (8) și Ciclocitidina (32), în asociere cu DRB, VCR, PDN. Transplantul de măduvă hematopoietică este singura metodă care poate determina remisiuni complete de durată (peste 6 ani) (11).

III. TRATAMENTUL DETERMINĂRILOR NEURO-MENINGIENE ÎN LANLb

Afectarea neuromeningee survine rareori în cursul leucemiilor acute nelimfoblastice (LANLb) și spre deosebire de LAL, apariția manifestărilor neurologice se constată în primele trei luni de la diagnostic (24, 41). Tratamentul radio-chimioterapic, identic protocolului din LAL, determină în majoritatea cazurilor remisiune de durată : în studiul lui Law și Blom nu s-a constatat nici o recădere neuromeningee la pacienții cu LANLb, față de 75% la cazurile cu LAL supuse acelaiași protocol radio-chimioterapic.

IV METODE TERAPEUTICE DE REZERVĂ

Se încearcă ameliorarea prognosticului LANLb prin optimizarea schemelor terapeutice și experimentarea unor noi citostatice. Tendința de simplificare a schemelor de tratament, observată și în LAL, corespunde încercărilor de chimioterapie selectivă : de ex., terapia cu Daunorubicină în LAP sau cu VP 16.213 în LAMo.

1. *Monoterapia cu Cytosar* (9). Într-un studiu pe 13 cazuri cu LANLb, devenite refractare la tratamentul convențional, Domingo I Albós obține 69% răspunsuri favorabile (remisiuni complete și parțiale) prin tratament unic cu Cytosar. Asocierea de vitaminoterapie intensivă a permis creșterea de peste 20 de ori a dozei uzuale de Cytosar, cf. schemei : factori nutritivi (acid ascorbic, acid folic, B complex, vit. PP) 40 ml/h i.v. timp de 6—7 ore, urmat de Cytosar 43 mg/Kgc i.v. timp de 2 ore. Factorii nutritivi și Cytosarul se administrează alternativ,de 5 ori. Durata unei cure este de 37—42 h. Se repetă după un interval minim de 10 zile.

2. *Monoterapia cu Adriamicină* (48), constînd din administrarea unei doze de citostatic la fiecare 2 săptămîni, de 3 sau mai multe ori, la 150 de pacienți deveniți refractari la protocolul convențional, a permis grupului SWOG obținerea unui procent de 11% remisiuni complete și 7% remisiuni parțiale.

3. *Monoterapia cu 5-Azacitidină* (25, 47, 46). În cazurile de LAM refractară, Vogler și col. folosesc un analog de pirimidină, 5-Azacitidina, în doze de 150 mg/m²/zi, perfuzie continuă în Ringer lactat timp de 5 zile, la fiecare 2 săptămîni. Din 45 de pacienți, la 11 (24%) s-a obținut remisiune completă, la alți 4 — remisiune parțială, deci răspuns favorabil în 33% din cazuri. Au fost necesare în medie 3 cure. Dozele superioare nu determină creșterea procentului de remisiuni. Într-un studiu pe 200 de cazuri, Armitage și Burns (1) raportează 20% remisiuni complete și 16% remisiuni parțiale, folosind însă administrarea subcutanată a drogului.

Alte chimioterapice în fază de experiment clinic sînt : *ciclocitidina* (anhidro-ara-C ; NSC 129.220), care s-a dovedit activă în as ociere cu DRB, VCR și PDN în LAM, LAMo și în eritroleucemie, fără să fie inactivată de dezaminaza Ara-C serică (34) ; *harringtonina* (8), alcaloid izolat din *Cephalotoxus hainanensis*, care a determinat răspuns favorabil în 80% din cazurile de LANLb refractare, în special în LAM și LAMMo ; *9-metoxi-ellipticina*, care poate induce remisiuni complete în LAM cu un procent scăzut de Mb în măduvă (sub 20%) ; *beta-2'-deoxitioguanina* (35), eficientă în LAM ; *prednimustine* (5), care a determinat remisiuni complete la 30% din cazurile cu LAM peste 60 de ani și o supraviețuire mediană de 31 săptămîni ; *neocarzinostatinul* (20), care, în asociere cu VCR, DRB, CAR și 6-MP induce 80% remisiuni complete în cazurile de LANLb refractare. De asemenea, administrarea *chalonelor granulocitare* (42) poate prelungi supraviețuirea și/sau induce remisiunea completă în LAM.

4. *Transplantul de măduvă hematopoietică*. Rămîne, ca și în cazul LAL, o metodă de excepție. Studiile clinice raportează remisiuni complete și supraviețuiri cu o durată peste 4—6,5 ani (11).

Scanned with OKEN Scanner

În concluzie, se aplică *monoterapie specifică* în LAP și LAMo, eventual în LAMMo ; pentru celelalte tipuri citologice se preferă schemele complexe ; se pare că nu este necesară profilaxia neuromeningee ; imunoterapia ameliorează prognosticul, dar speranța de supraviețuire rămîne net inferioară față de LAL.

BIBLIOGRAFIE

1. *Armitage J. O., Burns C. P.* Cancer Trat. Rep., 1977, *619*, 1721.
2. *Bennett J. M., Reed C. E.* Blood Cells, 1975, *1*, 101.
3. *Bekesi J. G., Holland J. F., Fleminger R et al.* Progr. Cancer Res. Ther., 1977, *2*, 573.
3'. *Bernard J. et col.* Schweiz. Med. Wschr., 1959, *23*, 604.
3". *Bernard J. et col.* Blood, 1973, *41*, 4, 489.
4. *Bloomfield C. D., Peterson L. C., Yunis J. J. et al.* Br. J. Haematol., 1977, *36*, 3, 347.
5. *Brandt L., Konyves I.* Leuk. Abstr., 1977, *25*, 9, 903.
6. *Broustet A., Bernard Ph.* Bordeaux Méd., 1977, *10*, 9, 531.
7. *Carpentier N. A. et col.* J. Clin. Invest., 1977, *60*, 4, 874.
8. (*Chinese Peoples Lib. Army 187th Hosp.*) Chinese Med. J., 1977, *3*, 5, 319.
9. *Domingo I. Albós A.* Ann. Med. (Barcelona), 1977, *63*, 5, 761.
10. *Embury St., Elias L., Heller Ph. et al.* West. J. Med., 1977, *126*, 262.
11. *Fefer A., Buckner C. D., et al.* New Engl. J. Med., 1977, *297*, 3, 146.
12. *Fiere D., Byron P. A., Martin C. et al.* Lyon Méd., 1976, *235*, 6, 485.
13. *Fiere D., Byron P. A., Felman P. et al.* Eur. J. Cancer, 1977, *13*, 4/5, 403.
14. *Flandrin G., Bernard J.* Blood Cells, 1975, *1*, 7.
14'. *Flandrin G. et al. Actualités Hématologiques, VI-ème série*, Masson, Paris, 14 et pass.
15. *Fried J. et al.* Cancer Treat. Rep., 1976, *60*, 12, 1937.
16. *Galton D. A. G., Dacie J. V.* Blood Cells, 1975, *1*, 17.
17. *Hoernsten P., et al.* Leuk. Abstr. 1978, *26*, 1, 41.
18. *Holland J. F., Glidewell O., Ellison R. et al.* Arch. Intern. Med., 1976, *135*, 12, 1377.
19. *Holland J. F., Bekesi J. G., Cuttner J. et al.* Israel J. Med. Sci., 1977, *13*, 7, 694.
20. *Kamimura O.* Leuk. Abstr., 1978, *26*, 4, 403.
21. *Keating M. J., Freireich E. J., McCredie B. K. et al.* CA—A Ca. J. Clin. 1977, *27*, 1, 2.
22. *Kuntz H.D.* Münch. Med. Wschr., 1977, *119*, 44, 1423.
23. *Larnicol N., Augery Y., Jasmin C. et al.* Bioméd., 1977, *26*, 3, 176.
24. *Law I. P., Blom J.* Cancer, 1977, *40*, 3, 1304.
25. *Levi J. A., Wiernik P. H.* Cancer, 1976, *38*, 36.
26. *Malou M., Baghriche Y., Hamladji R.M. et al.* Leuk. Abstr. 1977, *25*, 12, 1312.
27. *Mathé G.* Triangle, 1978, *18*, (2/3), 85.
28. *Mathé G., Kenis Y. La Chimiothérapie des Cancers* (*Leucémies, Hématosarcomes et Tumeurs Solides*). Exp. Sci. Fr., 1975, 293.
29. *Mathé G., Schwartzenberg L., Poutillart P. et al.* Cancer, 1974, *34*, 985.
30. *Mathé G., Belpomme D., Dantchev D. et al.* Blood Cells, 1975, *1*, 37.
31. *Moore M. A.* Blood Cells, 1975, *1*, 149.
32. *Nakamura T., Sasada M., Sawada H. et al.* Leuk. Abstr., 1977, *25*, 12, 1324.
33. *Nilsson P. G., Brandt L., Mitelman F.* Leuk. Res., 1977, *1*, 1, 31.
34. *Omura G. A.* Cancer Treat. Rep., 1977, *61*, 5, 915.
35. *Omura G. A., Vogler W. R., Smalley R. V. et al.* Cancer Treat. Rep., 1977, *61*, 7, 1379.
36. *Peterson B. A., Bloomfield C. D.* Cancer, 1977, *40*, 2, 647.
37. *Piotrowska-Sowinska J., Hellman A., Tyrankiewicz Z. et al.* Leuk. Abstr., 1977, *25*, 9, 979.

Scanned with OKEN Scanner

38. *Powles R. L., Russell J. A., Selby P. J. et al.* Lancet, 1977, *II*, 8047, 1107.
39. *Preisler H. D., Bjornsson S., Henderson E. S.* Cancer Treat. Rep., 1977, *61*, 1, 89.
40. *Preisler H. D., Bjornsson S., Mori M. et al.* Cancer Treat. Rep., 1977, *61*, 7, 1259.
41. *Ruggero D., Baccarini M., Zaccaria A. et al.* Haematologica, 1977, *62*, 3, 312.
42. *Rytomaa T., Vilpo J. A., Levanto A. et al.* Lancet, 1977, *I*, 8015, 771.
43. *Spiers A. S. D., Goldman J. M., Catovsky M. et al.* Cancer, 1977, *40*, 1, 20.
44. *Sultan C., Imbert M., Ricard M.—F. et al.* Am. J. Clin. Path., 1977, *68*, 6, 752.
45. *Toki H., Takahashi Y., Nakanishi N. et al.* Acta Med. Okayama, 1977, *31*, 1, 51.
46. *Van Echo D. A., Lichtenfeld K. M., Wiernik P. H.* Cancer Treat. Rep., 1977, *61*, 8, 1599.
47. *Vogler W. R., et al.* Blood, 1976, *48*, 331.
48. *Wilson H. E., Bodey G. P., Moon T. E. et al.* Cancer Treat. Rep., 1977, *61*, 5, 905.
49. *Whiteside M. G., Cauchi M. V., Paton C. M.* Med. J. Austr. 1976, 2, 10.
49'. *Weil M., Jacquillat Cl., Fourcade M. et al. Actualités Hématologiques*, VI-éme série, Masson, Paris, 1972, 3 et pass.
50. *Zabelina T. S. et al.* Leuk. Abstr., 1978, *26*, 1, 116.

Posibilități de tratament în leucemii rare

Frecvența redusă a unor tipuri de leucemii creează dificultăți în aprecierea eficienței diferitelor scheme terapeutice aplicate. Leucemiile rar întîlnite sînt: leucemia acută promielocitară (pag. 213); leucemia acută monoblastică (pag. 214); eritroleucemia (pag. 216); leucemia cu plasmocite; leucemia granulocitară subacută; leucemia cu tricholeucocite. Cu totul excepțional, s-au descris în literatură leucemii cu eozinofile, cu mastocite și megacarioblastoze maligne primitive. Cu excepția LA promielocitare și a LA monoblastice, unde s-a demonstrat acțiunea specifică a DRB și respectiv, a derivatului de podofilotoxină, VP 16.213, tratamentul acestora se află sub semnul experimentului clinic.

1. *Leucemia acută cu plasmocite* (LAPl) (4, 7, 9). Primul caz a fost publicat în 1906 de Gluzinski și Reichenstein. În prezent sînt descrise în literatură aproximativ 160 de leucemii acute plasmocitare primitive, majoritatea la grupa de vîrstă 60—70 ani. Deși mielomul multiplu se însoțește uneori de un procent crescut de plasmociți în sîngele periferic și în evoluție poate leucemiza, diagnosticul diferențial cu LAPl se poate face prompt, pe baza următoarelor criterii: a) *clinic*: prezența splenomegaliei și infiltrației leucemice viscerale, constantă în LAPl, excepțională în mielom multiplu și absența leziunilor osoase în LAPl; b) *biologic*: hiperleucocitoză în limite variabile (10 000—40. 000/mmc, uneori peste 100 000/mmc) cu plasmocitoză peste 20%, infiltrație medulară cu plasmocite atipice, hipergammaglobulinemie monoclonală în LAPl (caractere parțial comune cu mielomul multiplu) și c) *prognostic*: pentru LAPl durata medie a evoluției este de

4—8 luni, în timp ce pentru mielomul multiplu peste 17 luni. Tratamentul cu agenţi alkilanţi (se preferă, ca şi în mielomul multiplu, melphalanul şi ciclofosfamida) în asociere cu PDN, poate induce remisiunea completă, dar de scurtă durată. Se administrează: melphalan 0,25 mg/Kgc/zi timp de 4 zile asociat cu PDN 2 mg/Kgc/zi timp de 4 zile, la interval de 4 săptămîni, pînă la obţinerea remisiunii, sau: CPM 200—400 mg doză totală unică, la 7 zile, crescînd doza în funcţie de toleranţa hematologică, pînă la 1 000 mg/m² i.v. la 3 săptămîni şi PDN 40 mg/zi. Recăderile sînt sensibile la aceeaşi chimioterapie sau la protocolul din LAM (pag. 212), tip Lyon. Prognosticul postterapeutic rămîne sever (6, 10).

2. *Leucemia granulocitară subacută* (1) constă într-o hiperplazie granulocitară pînă la PN adult, cu exces de celule imature, blaşti atipici şi/sau stadiile iniţiale ale maturaţiei granulocitare: mieloblast, promielocit, care se constată în măduva osoasă, sîngele periferic şi organele invadate. Clinic, se asociază semnelor generale de impregnaţie neoplazică, un sindrom adeno-spleno-hepatomegalic, hemoragic şi anemic. Uneori se constată infiltraţie cutanată şi leziuni osteolitice. Leucocitele depăşesc în general 100 000/mmc (valoarea maximă întîlnită de noi a fost de 700 000/mmc). Medulograma relevă modificări pe toate cele trei serii: eritroblastopenie cu megaloblastoză, uneori hipermegacariocitoză, în contrast cu trombocitopenia periferică, hiperplazia seriei granulocitare, cu anomalii constînd în prezenţa pseudocorpilor Döhle, aspect pseudopelgeroid. Uneori se constată mielofibroză. Fosfataza alcalină leucocitară poate fi absentă, normală sau crescută. Cromozomul Ph_1 este uneori pozitiv. Prognosticul este rezervat, dar mai favorabil pentru cazurile cu cromozom Ph_1+, cu osteomielofibroză (evoluţie: aproximativ 4 ani), faţă de cazurile fără osteomielofibroză, care supravieţuiesc sub 1 an. Cazurile fără cromozom Ph_1 se pot confunda sub aspect clinic, biologic şi prognostic, cu LMMo subacută sau cu mielofibroza subacută.

Se afirmă că tratamentul nu ameliorează prognosticul. S-a încercat administrare de PDN, HUR, 6-MP. În clinica noastră, tratamentul conform protocolului Lyon (pag. 212), asociind DRB, VCR, CAR a determinat remisiune completă şi supravieţuire peste 4 ani într-un caz de leucemie granulocitară subacută cu cromozom Ph_1+, fără osteomielofibroză, a cărui evoluţie a fost marcată de frecvenţa şi gravitatea accidentelor tromboembolice şi prezenţa splenomegaliei grd. IV, ambele cedînd complet la tratament. Menţionăm că terapia cu Busulfan a fost total inoperantă.

3. *Leucemia cu tricholeucocite* (*Hairy-cell leukemia*). Descrisă în 1958 de Bouroncle sub denumirea de „reticuloendotelioza leucemică", leucemia cu tricholeucocite reprezintă aproximativ 2—6% din totalul hemopatiilor maligne (13). Afecţiunea se caracterizează prin spleno-

hepatomegalie (în 80% și respectiv, 50% din cazuri), absența adenomegaliilor și prezența tabloului clinico-biologic al insuficienței medulare globale, eventual cu mielofibroză asociată. Prezența în exces, în sîngele periferic și măduva hematopoietică, a unor celule cu diametrul de 10—20 microni, nucleul central sau ușor excentric, rotund sau oval, ocupînd 1/2 din suprafața celulară, cu cromatina în rețea foarte fină, (rareori cu nucleol) și cu o citoplasmă palidă, *cu limite neregulate*, explică denumirea actuală a afecțiunii. Tricholeucocitele prezintă uneori caractere B, alteori T sau duble. Examenul citochimic relevă prezența fosfatazei acide neinhibate de acidul L-tartric și a esterazelor specifice monocitare. Durata evoluției este de aproximativ 4 ani.

Au fost încercate numeroase scheme terapeutice: monochimioterapie cu VBL, VCR, CPM, clorambucil; polichimioterapia din boala Hodgkin, androgenoterapie pentru stimularea eritropoiezei, corticoterapie, splenectomie. În prezent, administrarea de citostatice este *formal contraindicată*, reducînd net durata de supraviețuire; androgenoterapia este inoperantă; corticoterapia pare utilă, reducînd splenomegalia și uneori, insuficiența medulară, iar valoarea splenectomiei este controversată: majoritatea autorilor o recomandă totuși, ca singura terapie eficientă, în special cînd se asociază cu fenomene de hipersplenism (2, 5).

4. *Leucemia cu eozinofile*. Este o entitate contestată, datorită tabloului clinic polimorf și rarității sale. Se întîlnește mai frecvent la sexul masculin, vîrsta medie fiind de 32 de ani (12). O eozinofilie semnificativă (9—80%) în sîngele periferic și măduva osoasă, alături de prezența infiltratelor leucemice eozinofile predominant cardiace, precizează diagnosticul afecțiunii. Implicația cardiacă se manifestă clinic prin tahicardie sinusală, suflu sistolic traducînd insuficiența mitrală, eventual și tricuspidiană și insuficiență cardiacă congestivă. La necropsie se constată fibroză și/sau necroză endocardică („endocardita parietală fibroplastică Loeffler") spleno-hepatomegalie, infiltrat eozinofil renal și pulmonar, cu îngroșarea mediei arterelor mici. Excepțional, evoluția este lentă, cu remisiune spontană. În general însă, afecțiunea este rapid fatală. Tratamentul cu corticoizi și 6-MP este inoperant; HUR și Busulfan în dozele și ritmul de administrare din LGC pot avea acțiune favorabilă, dar pasageră.

5. *Leucemia cu mastocite* (*primitivă*) este o eventualitate excepțională (11). Mai frecvent se întîlnește leucemizarea mastocitozelor sistemice, caracterizate prin inflitrare cutanată, hepatică, splenică și ganglionară, dar și acestea prezintă o frecvență mult redusă în cadrul hemopatiilor maligne (numai 10 cazuri în literatură, cu verificare necroptică). Asocierea unei osteomielofibroze pledează pentru leucemizarea secundară a unei mastocitoze (caracter *esențial* în diagnosticul di-

Scanned with OKEN Scanner

ferențial cu leucemia mastocitară primitivă). Tabloul clinic este însă identic sub aspectul simptomatologiei, fiind declanșat de deversarea masivă de histamină : *flush* cutanat și diaree survenind în crize. Biologic, infiltratele leucemice, generalizate, se caracterizează prin prezența mastocitelor cu metacromazie la albastru de toluidină și caractere de malignitate, reprezentate, după Lennert, de modificarea raportului nucleo-citoplasmatic în favoarea nucleului, imaturitate celulară manifestată printr-un număr redus de granule metacromatice, frecvente mitoze atipice, marcat polimorfism celular și nuclear, cu nucleoli multipli, giganți. Evoluția este rapid fatală (în cîteva luni) (11, 13).

Tratamentul constă în administrarea de CPM 500 mg i.v. la două zile interval, sau asocierea : VCR 0,5 mg/zi, i. v.+Bleomicină, 15 mg/zi+ PDN 25 mg/zi la două zile, pînă la ameliorarea simptomatologiei. Ciclofosfamida reduce uneori semnele cutanate, iar asocierea VCR+ +BL+PDN poate diminua spleno-hepatomegalia, dar nici una din schemele terapeutice încercate nu influențează durata supraviețuirii. Imunoterapia pasivă cu anticorpi anti-IgE cuplați cu Clorambucil nu a determinat rezultatele scontate (3).

6. *Megacarioblastoza malignă primitivă*, entitate distinctă de acutizarea megacariocitară a LGC, este de asemenea excepțională. Cele 22 de cazuri descrise în literatură pînă în 1973, prezintă tabloul clinic al unei leucemii acute cu sindrom hemoragic sever. În sîngele periferic și măduvă se constată proliferare exuberantă de megacariocite patologice, cu caracter de malignitate, de talia unui limfocit mic. Tratamentul cu 6-MP și PDN este inoperant (8).

BIBLIOGRAFIE

1. *Brière J., Castro-Malaspina O., Tanzer J., Bernard J.* Nouv. Rev. Fr. Hématol., 1975, *15*, 4, 407.
2. *Burgaleta C., Golde D. W.* Sangre, 1977, *22*, 2, 148.
3. *Clancy R. L., Gauldie J., Vallieres M. et al.* Cancer, 1976, *37*, 693.
4. *Cordier J. F., Coeur P., Creyssel R., Revol L.* Lyon Méd., 1977, *237*, 3, 211.
5. *Ferrari G. P., Uccella R.* Minerva Med., 1977, *68*, 25, 1727.
6. *Foa J., Carcassonne Y.* Sem. Hôp. (Paris), 1976, *52*, 3, 165.
7. *Fülle H. H., Pribilla W.* Dtsch. med. Wschr. 1973, *98*, 17, 874.
8. *Itzumi T., Onishi Y., Higuchi M.* Acta Path. Jap., 1973, *23*, 2, 367.
9. *Martinez S. C, Gutierrez P. C., Ramos-Torres J.* Prensa Med. Mex., 1976, *41*, 11—12, 400.
10. *Schaerer R., Sotto J. J.* Lyon Méd., 1977, *237*, 3, 175.
11. *Schony N., Nürnberger F., Niedobitek F.* Tägl. Praxis, 1977, *18*, 197.
12. *Solley G. O., Maldonado J. E., Gleich G. J. et al.* Mayo Clin. Proc., 1976, *51*, 11, 697.
13. *Tulliez M.* Conc. Méd., 1977, *99*, 37, 5477.

Scanned with OKEN Scanner

Tratamentul adjuvant în leucemiile acute

Chimioterapia leucemiilor acute, bazîndu-se pe cinetica particulară a celulei neoplazice, este în esență neselectivă și are repercusiuni asupra tuturor țesuturilor în proliferare rapidă, inclusiv asupra celor normale. Tratamentul adjuvant, la fel de important ca și protocolul chimioterapic, în asigurarea supraviețuirii, are două obiective principale: 1. combaterea sd. infecțios, hemoragic și anemic determinat de aplazia medulară; și 2. prevenirea insuficienței renale acute secundare hiperuricemiei prin distrugere celulară naturală (proliferări cu turn-over rapid) sau terapeutică.

1. a) *Combaterea sd. infecțios.* Condiția esențială a terapiei LA este izolarea pacientului în scopul evitării contaminării exogene. În funcție de valorile imunoglobulinelor serice, se pot administra gammaglobuline în doză de 0,2—0,5 ml/Kg. corp o dată la două săptămîni, tratament grevat însă de riscul hepatitei virale.

În mod obișnuit nu se recomandă *profilaxia* cu antibiotice, cu excepția a două situații: tratamentul cu doze ridicate de corticoizi și granulocitopeniile severe, care impun izolarea în camere sterile. În acest caz, administrarea de antibiotice nerezorbabile per os diminuă riscul septicemiei cu floră endogenă și crește speranța de supraviețuire. Se recomandă (4): Framicetin sulfat 500 mg la 6 ore, Colistin sulfat $1,5 \times 10^6$ unități la 6 ore, Nistatin $0,5 \times 10^6$ unități la șase ore, concomitent cu administrare de Clorhexidin local, la nivelul gingiilor, conductului auditiv extern și perineal. În scop *curativ*, antibioterapia se aplică pentru orice puseu febril peste 38°C cu o durată peste 24 h.

Se asociază administrare de concentrat leuco-plachetar, vitamine și experimental, terapia cu litiu (2').

1. b) *Tratamentul sindromului hemoragic* constă în administrare de sînge proaspăt și/sau concentrat leuco-plachetar. Ritmul și durata administrării depind de starea clinică și valorile hematologice. Se asociază obligatoriu heparină în sd. de CIVD.

1. c) Dată fiind durata de viață a eritrocitului, *sd. anemic* se instalează tardiv. Sensibilitatea crescută a precursorilor medulari determină însă instituirea profilaxiei cu Metil-testosteron concomitent cu chimioterapia, ca stimulator eritropoietic Se administrează 1 mg/Kg. corp/zi, timp de minimum trei luni, sub controlul TGP și eventual, al volumului prostatei (1, 3). Se asociază tratament cu vit. B_{12} 100 gamma i.m. la două zile și Acid folic 20 mg/zi, per os. Se recurge la transfuzii de sînge integral sau masă eritrocitară, eventual hematii spălate, în funcție de severitatea sd. anemic. În cazurile cu autohemoliză se administrează corticoizi. Fenomenul de intoleranță la sîngele izogrup izo-Rh, care se poate observa în unele sd. anemice grave, poate

Scanned with OKEN Scanner

fi depășit prin administrarea de hematii *spălate* izogrup izo-Rh, sau a hematiilor spălate din grupa 0(I) la pacienții din celelalte trei grupe, cu păstrarea specificității de Rh a hematiilor transfuzate.

2. *Prevenirea hiperuricemiei*. Este esențială în profilaxia insuficienței renale acute intra- și post-chimioterapice. Se recomandă: cură de diureză (2—3 l/zi), alcalinizarea urinii prin ingestie de bicarbonat de sodiu 2—6 g/24 h, și administrare *obligatorie* de inhibitori de xantin-oxidază (Allopurinol, Milurit) în doză de 300—600 mg 24/h, fracționată în trei prize. Unii autori (2, 5) insistă asupra necesității de a asigura în cursul primelor două zile de tratament citostatic, o diureză orară de 100 ml (prin cură de diureză și la nevoie, administrare de furosemid).

În concluzie, tratamentul adjuvant al leucemiilor acute urmărește combaterea sd. hematologic postchimioterapic, care, alături de insuficiența renală acută generată în special prin hiperuricemie, explică de cele mai multe ori bilanțul negativ al terapiei leucemiilor.

BIBLIOGRAFIE

1. *Alexanian R., Alfrey C. P.* Cancer, 1976, *38*, 833.
2. *Begemann H. Blut und Blutkrankheiten*. T. 6—*Leukämien*. Springer-Verlag Berlin—Heidelberg—New York, 1978, 377 et pass.
2'. *Barrett A. J., Griscelli C., Buriot D., Faille A.* Letter. Lancet, 1977, *II*, 8052/3, 1357.
3. *Najean Y., Pecking A.* Vie Méd., 1976, 3/4, 28/29, 2303.
4. *Storring R. A., McElwain T. J., Jameson B. et al.* Lancet, 1977, *II*, 8043, 837.
5. *Williams J. W., Beutler E., Erslev A., Rundles R. W. Hematology*. McGraw-Hill Book Company, 1977, 830 et pass.

Scanned with OKEN Scanner

CUPRINS

Cuvînt înainte 5
Abrevieri 6

CONCEPŢII ACTUALE ÎN HEMATOPOIEZĂ de G. Popa, Marioara Niculescu, Mioara Popa 7

UNELE PROBLEME ACTUALE ALE IMUNOLOGIEI SISTEMULUI LIMFOID 35
— Nomenclatura şi clasificarea actuală a limfoamelor maligne nehodgkiniene — de G. Popa 36
— Sindroame limfoproliferative imune: limfadenopatia angioimunoblastică şi imunoblastosarcomul — de G. Popa, Gioconda Dobrescu, Ligia Iordăcheanu, Ecaterina Hanganu 66
— Particularităţi ale sindroamelor limfoproliferative la bătrîni — de G. Popa, Mioara Popa 82
— Corelaţii morfologice, imunologice şi prognostice în boala Hodgkin — de Alice Brătianu, Ioan Tansanu şi Ecaterina Hanganu 87

ACTUALITĂŢI ÎN PROBLEMA HEMOGLOBINELOR ANORMALE — de Ioan Voiculescu 99
— Biochimia fiziologică a hemoglobinei 99
— Patologia hemoglobinei 108
— Situaţia hemoglobinelor anormale pe teritoriul ţării noastre 115

SINDROAME PARANEOPLAZICE HEMATOLOGICE de G. Popa, Mioara Popa 119
— Reacţii paraneoplazice medulo-osoase 119
— Sindroame paraneoplazice în sîngele periferic 122

O MARE URGENŢĂ HEMATOLOGICĂ: COAGULAREA INTRAVASCULARĂ DISEMINATĂ ACUTĂ de G. Popa 132

IMPLICAŢII HEMATOLOGICE ALE MEDICAMENTELOR de G. Popa, Cristina Burcoveanu 152
— Tulburări hematologice de origine centrală 152
— Tulburări hematologice postmedicamentoase de tip periferic 162

Scanned with OKEN Scanner

TRATAMENTUL LEUCEMIILOR ACUTE de G. Popa și Ecaterina Hanganu . 175
— Date generale asupra chimioterapiei 175
— Date generale asupra imunoterapiei 182
— Tratamentul leucemiilor acute limfoblastice 188
— Tratamentul leucemiilor acute nelimfoblastice 203
— Posibilități de tratament în leucemii rare 220
— Tratamentul adjuvant în leucemiile acute 224

Redactor : ADA FĂRTĂIȘ
Tehnoredactor : MIHAI BUJDEI

Apărut 1980. Format 61×86/16. Coli tipo : 14,25 și 22 pag. planșe. Bun de tipar la 1.III.1980. Editura Junimea, str. Gheorghi Dimitrov nr. 1 IAȘI — ROMÂNIA

Tiparul s-a executat sub cd. 304/1979 la Întreprinderea poligrafică Iași str. 7 Noiembrie nr 49.

Scanned with OKEN Scanner

EDITURA JUNIMEA IAȘI

actualități în HEMATOLOGIE

Volumul de față își propune să fie, pe de o parte, un ghid printre unele incertitudini (celula tulpină ; clasificarea și imunologia limfoamelor maligne ; tratamentul leucemiilor acute), pe de altă parte, se referă la unele certitudini : problema hemoglobinelor anormale ; pericolul major al abuzului în utilizarea unor medicamente cu înalt risc hematologic ; coagularea intravasculară diseminată.

Sîngele nu dă numai culoare vieții și chipului uman, dar el este și cel care asigură personalitatea noastră biologică.

LEI 15

Scanned with OKEN Scanner